Aus der Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenkrankheiten
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. Dietrich Plester

ENZYMHYSTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN AM INNENOHR DER FORELLE SALMO TRUTTA

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
ANDREAS BRUDER
aus
BADEN-BADEN

1978

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41523707_0049

Aus der Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenkrankheiten
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. Dietrich Plester

ENZYMHYSTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN AM INNENOHR DER FORELLE SALMO TRUTTA

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
ANDREAS BRUDER
aus
BADEN-BADEN

1978

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. H.-E. Hoffmeister

Berichterstatter: Professor Dr. D.Plester

FOTODRUCK H. RESCH · Georgstr. 50 · 7402 Kirchentellinsfurt

M E I N E N E L T E R N

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1 EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
2 MATERIAL UND METHODEN	11
2.1 Untersuchungsmaterial	11
2.2 Herstellung der Schnitte	11
2.3 Histochemische Nachweisreaktionen	13
2.3.1 Nachweis auf Dehydrogenasen	14
2.3.2 Nachweis auf Proteasen	17
2.3.3 Nachweis auf unspezifische Esterasen	18
2.4 HE-Färbung	18
2.5 Fotografieren der Präparate	19
2.6 Bezugsquellennachweis	19
3 ERGEBNISSE	21
3.1 Das Verhalten der Cristae ampullares bei den enzymhistochemischen Untersuchungen	22
3.2 Das Verhalten der Plana semilunata bei den enzymhistochemischen Untersuchungen	28
3.3 Das Verhalten von Macula utriculi, Macula sacculi und Macula lagenae bei den enzymhistochemischen Untersuchungen	3o
3.4 Das Verhalten der Papilla neglecta bei den enzymhistochemischen Untersuchungen	36
3.5 Das Verhalten weiterer Strukturen des Innenohres bei den enzymhistochemischen Untersuchungen	4o
3.6 Tabellarische Darstellung der Ergebnisse	41
4 DISKUSSION DER ERGEBNISSE	42
5 ZUSAMMENFASSUNG	53
6 LITERATURVERZEICHNIS	55

1 EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Der Aufnahme bestimmter Reize dient bei den Fischen das Seitenlinienorgan. Ontogenetisch entwickelt es sich zusammen mit dem Labyrinth aus derselben Anlage und trennt sich nach LÖWENSTEIN (1971) ca. am 13. Tage ab. Aus einem separaten einheitlichen Ohrbläschen bildet sich nun das Labyrinth.

Phylogenetisch hat sich das Labyrinth, von LÖWENSTEIN (1971) als bisher letzte Entwicklungsstufe eines aus dem Seitenlinienorgan entstandenen Sinnesorganes betrachtet, bei der Forelle in die Gehirnkapsel eingeschlossen. Die Unterteilung in drei Bogengänge und drei Otolithenorgane, Utriculus, Sacculus und Lagena hat bei den Teleostiern schon stattgefunden. Der Ductus endolymphaticus bildet bei den Elasmobranchiern die letzte dünne Verbindung zur Außenwelt, bei den Teleostiern ist das Labyrinth vom äußeren Medium vollständig abgeschlossen.

So erhebt sich bei den Fischen die Frage nach dem Mechanismus der Schalleitung und des Hörens. Dieser scheint aufgrund vorliegender Untersuchungen bei einigen Fischen geklärt zu sein, so beim Hai, den Ostariophysen und den Clupeiden. Allerdings werden verschiedene Sinnesepithelien als Geräuschrezeptororgane vermutet, wie beim Hai die Papilla neglecta, bei den Ostariophysen die Macula sacculi und bei den Clupeiden die Macula utriculi.

Andere Untersuchungen des Innenohres beschäftigen sich mit der Frage nach den Organen der Gleichgewichtsfunktion sowie der Endolymphsekretion.

Morphologischen, histologischen und zytologischen Beschreibungen und in neuerer Zeit phasenkontrast- und elektronenmikroskopischen sowie elektrophysiologischen Untersuchungen widmeten sich viele Autoren, wobei Abhandlungen über das Ohr speziell der Forelle oder anderer Arten der Salmonidae

selten sind. So ist es notwendig, von anatomischen Verhältnissen anderer Fische auf das Labyrinth der Forelle zu schließen, auch wenn RETZIUS (1881 a) schreibt: "... daß in keiner anderen Abteilung der Wirbeltiere, wenigstens in keiner Unterklasse eine solche Mannigfaltigkeit und Wechselung der Gestalt, ein solches Streben der Natur verschiedene Formen zu bilden, vorkommt, wie gerade bei den Teleostiern ..." und BIERBAUM (1914) zeigte, daß Differenzen selbst innerhalb der einzelnen Arten vorkommen. Doch scheinen sich diese Unterschiede nur auf die Form der einzelnen Strukturen und deren Lageverhältnis zueinander zu beziehen und nicht auf den Aufbau. BAIRD (1974) schreibt in seiner Gegenüberstellung der Labyrinthe der Fische, Amphibien, Reptilien und Vögel und der Entwicklung des Innenohres durch die Klassen hindurch über das Innenohr der Osteichtyes, daß die Unterteilung in der Morphologie des Labyrinthes ziemlich konstant bleibe. Veränderungen erfolgten mehr in der Größe als in der Beschaffenheit. So liegt genügend Literatur vor, um für die histochemischen Untersuchungen auf die anatomischen Gegebenheiten zurückgreifen zu können, da die morphologischen, histologischen und zytologischen Strukturen, bis auf geringe artspezifische Abweichungen, denen anderer Fische entsprechen.

Nach STETTER (1928) wurde das innere Ohr der Fische 1610 von Casserius entdeckt. Das Gehörorgan liegt zu beiden Seiten des Gehirns in einer Ausbuchtung der Schädelkapsel. Nach medial ist das Labyrinth der Forelle nicht durch Knochen begrenzt. Nach lateral befindet sich eine verknöcherte Abgrenzung, die nach HADZISELIMOVIC und ANDELIC (1966) aus Knochenlamellen besteht, welche durch knorpeliges Material verbunden sind. Alle drei Bogengänge liegen in knochenknorpeligen Ausbuchtungen.

Zwischen dem Knochen und der Dura mater einerseits und dem membranösen Labyrinth andererseits liegt das, mit Perilymphe und perilymphatischen Gewebe ausgefüllte, Cavum perilymphaticum.

In seinen Grundzügen besteht das Labyrinth aus einer Pars superior und einer Pars inferior. Die Pars superior bilden der Utriculus und die drei Bogengänge, die Pars inferior der Sacculus und die Lagena. Das Labyrinth zeigt, bis auf die Lagena, dem vestibulären Teil des Säugerohres eine morphologische Ähnlichkeit.

Es sind sieben Nervenendstellen vorhanden, die Maculae sacculi, utriculi und lagenae, die Papilla neglecta sowie die drei Cristae ampullares. Die Nervenversorgung dieser Nervenendstellen erfolgt durch die Endäste des Nervus acusticus.

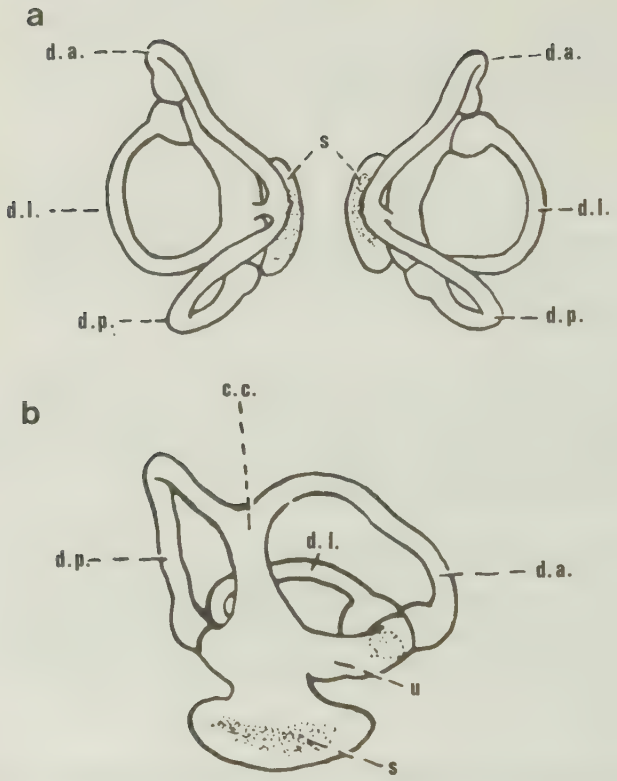
Der Utriculus ist eine kurze, hohe Röhre. Am caudalen Ende geht der breite Sinus superior nach dorsal senkrecht ab und läuft im sogenannten Apex aus. Er nimmt den anterioren und posterioren Bogengang auf.

Nach rostral erweitert sich der Utriculus in den Recessus utriculi. Hier beginnen mit den Ampullen der anteriore und laterale Bogengang. Vom caudalen, kurzen Ende des Utriculus geht mit der Ampulle der posteriore Bogengang ab.

Zwischen Utriculus und Sacculus besteht eine breite Verbindung.

Der Sacculus ist oval, in seinem caudalen Teil, nur durch eine kleine medial liegende Falte abgegrenzt, liegt die Lagena. Im Sacculus beginnt der blind endende Ductus endolymphaticus.

Forelle



a Rechtes und linkes Labyrinth von oben gesehen
b Mediale Labyrinthansicht

c.c. = crus commune
d.a. = ductus semicircularis anterior
d.l. = ductus semicircularis lateralis
d.p. = ductus semicircularis posterior
s. = sacculus
u. = utriculus

Skizzen nach HADZISELIMOVIC und ANDELIC (1966)

Die Labyrinthwand besteht aus einer weitgehend strukturlosen, schwach basophilen Grundsubstanz. In dieser Grundsubstanz finden sich weitverzweigte, anastomisierende spindelförmige Zellen, weshalb HASSE (1872, 1873) und RETZIUS (1881 a u. b) auch von "Spindelknorpel" sprechen.

An die Grundsubstanz grenzt nach innen ein flaches, einfaches, polygonales Plattenepithel, das sich nach RÜDINGER (1872) in den Bogengängen zu einem epithelialen Bändchen verdickt. In der Nähe der Nervenendstellen werden die Epithelzellen kubisch und verändern sich zu verschieden gebauten Übergangsepithelien.

Die Maculae, Cristae und die Papilla neglecta sind mit Sinnesepithel bedeckt. LÖWENSTEIN, OSBORNE und WERSÄLL (1964) bei den Elasmobranchiern und FLOCK (1964) bei den Teleostiern kamen bei Untersuchungen des Sinnesepithels zu nahezu gleichen Ergebnissen. So spricht LÖWENSTEIN (1971) auch von einem einheitlichen, morphologischen Typ der Sinnesezelle bei Fischen.

Das Sinnesepithel besteht aus:

1. Sinnes- oder Haarzellen
2. Stützzellen mit einzelnen Becherzellen
3. Nervenfasern

Die Sinneszellen haben neben normalerweise vorhandenen Zellorganzellen am apikalen Ende innerhalb des Cytoplasmas eine elektronendichte, sogenannte "Cuticularplatte", in der die "Hörhaare" verwurzelt sind. Diese bestehen aus einer Kinozilie und 4o bis 6o Stereozilien. Die Anordnung ist regelmäßig, so daß FLOCK (1964) von einer "normalen" Sinneszelle spricht. Daneben kommen vereinzelt Sinneszellen mit anderer Anordnung der Kinozilie und Stereozilien vor. Sie stellen die Ausnahme dar.

Die Kinozilie hat einen seitlichen elektronendichten Auswuchs, den "Basalfuß". Dieser Basalfuß hat eine reizleitende Funktion bei Bewegung der Kinozilie in Richtung der Stereozilien und eine hemmende Funktion bei Bewegungen in entgegengesetzter Richtung. An der Zellbasis setzen über Synapsen verbunden Nervenendigungen in Zellausbuchtungen an.

Zwischen den Sinneszellen liegen Stützzellen, die von einer Basalmembran ausgehen. Ihre Oberfläche ist von Mikrovilli und kurzen Cilien bedeckt.

Zwischen den Stützzellen, unregelmäßig verteilt, können einzelne Becherzellen vorkommen.

Nach WERNER (1960) gehen die drei Maculae in der ontogenetischen Entwicklung aus der Macula communis hervor und behalten ihren gleichartigen Aufbau. Die Macula utriculi zeigt bei allen Wirbeltieren weitgehende Gleichartigkeit in Größe, Gliederung und Lage, die Macula sacculi und Macula lagenae variieren, besonders bei den Fischen.

Die Macula utriculi liegt horizontal am konkaven Boden des Recessus utriculi.

Die Papilla neglecta besteht nach SCHNAKENBECK (1962) aus einer doppelten Ansammlung von Sinneszellen mit je einer Cupula. Sie liegt am Boden des Utriculus, caudal der Öffnung des Sacculus. Nach DE BURLET (1928) kommt die Papilla neglecta in allen Wirbeltierklassen vor. Bei den Fischen fehlt sie selten, bei Amphibien fast immer, bei Reptilien und Vögeln ist sie schwächer entwickelt als bei den Fischen; bei den Säugetieren fehlt sie fast immer. Die ovale, langgestreckte Macula sacculi liegt an der medialen Sacculuswand. Sie steht senkrecht zur aufrechten Lage des Fisches.

Nach FRISCH und STETTER (1932) kommen den Otolithenorganen des Sacculus und der Lagena keine statische Funktion zu. Die Macula lagenae steht ebenfalls senkrecht zur normalen Lage des Fisches. Sie liegt an der mediocaudalen Lagenawand.

Im Zusammenhang über die Frage des Hörens der Fische untersuchte TOMASCHECK (1937) das Sinnesepithel der Lagena der Bachforelle. Im Vergleich zu anderen Fischen ist die Ausdehnung des Sinnesepithels in der Lagena bei der schlecht hörenden Forelle gering. Er kommt zu dem Schluß, daß die Lagena das Hörorgan der Fische ist.

SCHOEN und VON HOLST (1950) sprechen der Lagena eine in ihrer Größe lageabhängige, tonisierende Wirkung auf das gleichseitige Gleichgewichtszentrum, durch die Aktivitätsunterschiede in beiden Zentren ausgeglichen werden, zu.

Die Maculae tragen oft beschriebene Otolithen. WERNER (1928) beschrieb die Otolithen der Knochenfische, und AHRENS (1950) stellte sie in situ am Totalpräparat dar.

In den Ampullen liegen die Cristae ampullares mit der jeweiligen Cupula terminalis. Diese erstmals von LANG (1863) beschriebenen Gebilde sind mit Sinnesepithel überzogene, quer zum Ampullenlängsschnitt stehende Zapfen. Auf ihnen befindet sich die Cupula terminalis, nach FARKAS (1936) ein Abscheidungsprodukt der an den Seitenwänden der Ampullen liegenden Plana semilunata.

HAZAMA (1928) untersuchte die Regiones secretoriae beiderseits der Cristae und teilweise um die Maculae. Es sind die von RETZIUS (1881 a u. b) beschriebenen protoplasmatischen Zellen. Diese Zellen sind bei der Forelle relativ flach, Stützzellen in diesen Gebieten sind wenig ausgeprägt und wurden nur an den Crista-Abhängen beschrieben.

In der vorliegenden Arbeit soll die Verteilung folgender Enzyme am Innenohr der Forelle untersucht werden:

a) Dehydrogenasen
b) unspezifische Esterase
c) Proteasen

Diesen Enzymen kommen folgende unterschiedliche biologische Funktionen im Zellstoffwechsel zu (KARLSON 1972 und HARPER, LÖFFLER, PETRIDES und WEISS 1975):

Als Enzyme des Citratcyclus katalysiert Isocitronensäuredehydrogenase (ICDH) gleichzeitig die Decarboxylierung und Dehydrierung des Isocitrat zu α-Ketoglutarat, Succinatdehydrogenase (SDH) die Dehydrierung von Succinat zu Fumarat durch ein Flavoproteinenzym sowie Malatdehydrogenase (MDH) die Dehydrierung von Malat zu Oxalacetat. Die Enzyme liegen mitochondral. Von der ICDH ist ein teils mitochondral teils im Cytosol gelegenes NADP abhängiges Enzym bekannt sowie ein nur mitochondral gelegenes NAD abhängiges Enzym.

Daneben weisen MDH und ICDH über das Oxalacetat und α-Ketoglutarat Beziehungen zum Aminosäurestoffwechsel auf. Im Asparatcyclus katalysiert MDH die Dehydrierung von Malat zu Oxalacetat, die mitochondral gelegene Glutamatdehydrogenase (GlDH) bewirkt die dehydrierende Desaminierung des Glutamat.

Mit der Glycerophosphatdehydrogenase (GDH) besitzt die Zelle die Möglichkeit, aus einem Zwischenprodukt der anaeroben Glycolyse, dem Dihydroxyacetonphosphat, α-Glycerophosphat zu bilden, das für die Fettsäuresynthese von Bedeutung ist; ebenso kann sie bei Katabolisierung der Fettreserven die anaerobe Glycolyse mit diesen Substraten speisen.

Die Glucose-6-phosphatdehydrogenase (G-6-PDH) katalysiert die Reaktion von Glucose-6-Phosphat zu 6-Phosphoglucolacton, wobei der Wasserstoff auf NADP übertragen wird. Dieser Reaktionsschritt des Pentosephosphatcyclus ist über NADP mit der Fettsäure- und Steroidproduktion verbunden und steht über Pentosen mit der Nucleotid- und Nucleinsäurebiosynthese in Zusammenhang.

Die Lactatdehydrogenase (LDH) ermöglicht der Zelle, über anaerobe Glycolyse und über Bildung von Lactat eine Sauerstoffschuld einzugehen. Das ist insofern von Bedeutung, um das NAD wieder in dehydrierter Form zur Katalyse der Triosedehydrierung zur Verfügung zu haben.

Die Reaktion auf unspezifische Esterase erfaßt eine inhomogene Gruppe ähnlich wirkender Enzyme, die die hydrolytische Spaltung von Carboxylsäureestern von Alkoholen, Phenolen und Naphtholen bewirken. Ester organischer Säuren geringer Kettenlänge werden bevorzugt von unspezifischer Esterase gespalten.

Der Nachweis proteolytischer Aktivität mit dem Substrat APNE weist auf das Vorhandensein von Endopeptidasen z.B. Chymotrypsin hin, welche dieses Substrat bei Phenylalanin zu hydrolisieren vermag.

Enzymhistochemische Untersuchungen bei Fischen liegen von VINNIKOV und TITOVA (1962) sowie von VINNIKOV, TITOVA und ARONOVA (1965) vor. VINNIKOV und TITOVA (1962) untersuchten die Dehydrogenaseaktivität in den Mitochondrien der Synapsen bei Wirbeltieren. Sie verglichen die Zu- bzw. Abnahme der Aktivitäten bei Tieren in Ruhe, nach Reizung mit Geräuschen verschiedener Frequenz und nach raschen Bewegungen. Diese Untersuchungen der Succinatdehydrogenase, Malatdehydrogenase, Lactatdehydrogenase und Alkoholdehydrogenase wurde auch beim Karpfen und Hecht durchgeführt.

VINNIKOV, TITOVA und ARONOVA (1965) untersuchten die Lokalisation und Aktivität der spezifischen und unspezifischen Cholinesterasen im Labyrinth und in den ganglionären Zellen des vestibulären und cochleären Ganglions bei verschiedenen Vertretern der Wirbeltiere. Diese Untersuchungen auf Butyrilcholinesterase (BChE) und Acetylcholinesterase (AChE) wurden ebenfalls am Karpfen und Hecht durchgeführt.

Die Untersuchung der Dehydrogenaseaktivität blieb auf bestimmte Zellbereiche der Sinneszellen des Fischlabyrinthes beschränkt. In der vorliegenden Arbeit soll darüber hinaus die Reaktion verschiedener Epithelien untersucht werden, ähnlich der Arbeit über die Lokalisation und Aktivität der Cholinesterasen, allerdings mit anderen Enzymen. Außerdem wird mit einer anderen Technik gearbeitet.

Es soll versucht werden, durch Enzymnachweise auf Stoffwechselvorgänge in den verschiedenen Epithelien zu schliessen. Resultate früherer enzymhistochemischer Untersuchungen an Tieren anderer Tierklassen sollen durch die Ergebnisse dieser Arbeit erweitert werden und durch Parallelen zu Gehörorganen höherer Wirbeltiere vermutete Funktionen der Epithelien bei den Fischen bestätigt werden.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Untersuchungsmaterial

Die Untersuchungen wurden an 32 Forellen (Salmo trutta) durchgeführt. Die Tiere waren 1 3/4 bis 2 Jahre alt. Um möglichst native Präparate zu erhalten, wurden unfixierte und unentkalkte Gefrierschnitte angefertigt. Die Tiere wurden mittels Netz gefangen und unmittelbar vor Ort, entsprechend den Angaben von WOHLFAHRT (1932) bei der Elritze (Phoxinus laevis L.) durch Dekapitation hinter dem Kiemendeckel, getötet und sofort in flüssiger Luft (- 196°C) tiefgefroren.

In flüssiger Luft waren sie transportfähig, ohne daß Veränderungen der Anatomie oder der Enzymaktivitäten zu befürchten waren.

In gefrorenem Zustand folgte die Resektion des Gesichtsschädels und der Augen, wobei es sich empfahl, einen Restteil des Auges zu belassen, um erstens eine Orientierung des Untersuchungsgutes zu gewährleisten, und zweitens die Distanz bis zum Beginn des Ohres abschätzen zu können. Nach der sagittalen Durchtrennung in der Medianebene wurden die gewonnenen Ohrpräparate in gefrorenem Zustand aufbewahrt. Um die Präparate vor Verdunstung zu schützen, wurden sie in feuchten Kammern oder in Parafilm eingewickelt, bei -2o°C gelagert.

2.2 Herstellung der Schnitte

Nach GIEBEL und PLESTER (1971) ist der Vorteil nativer Gefrierschnitte die relativ kurze Inkubationszeit, bei der es zu keinerlei unspezifischen Farbniederschlägen bei Inkubation ohne Substrat, trotzdem aber zu einer starken Färbung der Gewebe bei Inkubation mit Substrat kommt.

Um native Gefrierschnitte zu erhalten, wurde nach dem Verfahren, von GIEBEL (1977) angegeben, vorgegangen.

Die Montage des halben Kopfes auf dem Kryostaten (WKF, Modell WK 1150, Brandau, Deutschland, mit Motorantrieb) erfolgte bevorzugt in frontaler Orientierung. Dabei wurde die eventuell noch begradigte Dekapitationsfläche auf dem Kryostattisch festgefroren.

Schnitte in horizontaler und sagittaler Ebene erwiesen sich als nicht so günstig, erstens in der Darstellung der einzelnen Ohrstrukturen, zweitens für die Schnittechnik. Um in diesen beiden Ebenen alle Strukturen darstellen zu können, müssen die einzelnen Schnitte flächenmäßig sehr groß gewählt werden, was zwangsläufig zum Zerreißen der Schnitte führt.

Die Montage in frontaler Orientierung erfolgte zunächst in Übereinstimmung der Kantenlinien der Objektstücke mit denen des Kryostattisches, um nach Anschnitt des Ohres eine Ausrichtung zu ermöglichen, bei der vom Gehirn zu den Knochen-Knorpelteilen der äußeren Begrenzung des Ohres geschnitten wurde. Die Ausrichtung bedurfte zeitweise einer Korrektur. Auch auf die Kristallmassen der Otolithen muß geachtet werden. Sie sollten parallel zur Messerkante liegen, und zwar so, daß sie vom Messer nicht in die Strukturen der Maculae hineingetragen werden und diese zerreißen.

Aufgrund der unterschiedlichen Härtegrade der Gewebe mußte die Raum- und Tischtemperatur tief eingestellt werden. Als günstig erwies sich eine Raumtemperatur von -20°C, die Tischtemperatur wurde variiert zwischen etwa -24°C und -48°C. Entscheidend schien dabei der Fettgehalt des Präparates zu sein, der bei den einzelnen Tieren sehr unterschiedlich war. Das Schneiden mußte langsam erfolgen, da das Objekt bei tiefen Temperaturen spröde war. Dies wurde durch den eingebauten Motorantrieb erreicht, der auf langsamster Stufe

lief und bei dem die Geschwindigkeit noch zusätzlich am Handrad gebremst wurde. Um ein Zerreißen und Aufbrechen der Schnitte zu vermeiden, wurde das Objekt mit einem scharfen Skalpell zu einer Pyramide getrimmt.

Dennoch war es oft nicht möglich, ganze, zusammenhängende Schnitte zu bekommen, was einmal an der unterschiedlichen Härte der Gewebe (Gehirn, Otolithenkristalle, Knochen, Knorpel) lag, zum anderen am unterschiedlichen Fettgehalt der Tiere, wodurch jeweils eine günstige Tischtemperatur erst gesucht werden mußte. Die Schnittdicke betrug 2o µ.

Zur Orientierung und Kontrolle fand ein OP-Mikroskop (OPMi Ul, Zeiss, Oberkochen, Deutschland) Verwendung.

Die Schnitte wurden nach Aufbringen auf ein Deckglas durch Antauen gestreckt und anschließend wieder gefroren.

Bis zur Inkubation wurden die Deckgläser mit den Schnitten in einer feuchten Kammer bei -2o°C aufbewahrt.

Aus einem Ohr wurden mehrere (bis zu drei) Serien gewonnen, wobei jede Serie mindestens einen Schnitt jeder Ohrstruktur (mindestens eine Crista, Macula utriculi, Macula sacculi, Macula lagenae, Papilla neglecta) enthielt. So wurden bei einem Ohr Nachweisreaktionen auf mehrere Enzyme (bis zu drei; entsprechend der Anzahl der Serien) durchgeführt. Die Zeitdauer für das Schneiden einer Serie betrug etwa 2 Stunden.

2.3 Histochemische Nachweisreaktionen

Die Inkubation hat möglichst gleich nach dem Schneiden zu erfolgen, da schon nach wenigen Tagen eine Abschwächung der Enzymaktivitäten bei den Dehydrogenasen beobachtet werden konnte. Ebenfalls tritt eine Abschwächung der Enzymaktivitäten bei den Proteasen auf, während die Inten-

sität der unspezifischen Esterasen nicht nachläßt, wie BRODMANN (1977) angibt.

Die Inkubation der Dehydrogenasen und Proteasen erfolgte bei 37°C, der Esterasen bei Zimmertemperatur. Grundsätzlich wurden die Schnitte mit etwa o,5 ml der jeweiligen Inkubationslösung überschichtet, was mittels Mikropipetten sehr gut möglich war. Als Kontrolle wurde ein Ansatz ohne Substrat mitgeführt.

Beim Nachweis auf unspezifische Esterasen und Proteasen wurde die Simultankupplung angewandt, das heißt, das Diazoniumsalz Echtblau B wurde der Enzymsubstratlösung unmittelbar vor Inkubation zugesetzt. Da eine deutliche Reaktion auftrat, wurde eine Postkupplung nicht durchgeführt, die nach SCHÄTZLE (1971) notwendig wird, wenn eine Enzymhemmung durch eine Diazoniumverbindung oder eine Instabilität eines Diazoniumsalzes bei Temperaturen von 37°C über einen längeren Zeitraum eintritt. Bei Inkubation bei 37°C wurden Stamm- und Tetrazoliumsalzlösung oder Kopplungsreagenz sowie Pipettenspitzen und Deckglasständer auf 37°C vorgewärmt.

Nach der entsprechenden Inkubationszeit wurde die Reaktion, durch Überschichten der Schnitte mit 1o % Formaldehyd für 1o Minuten gestoppt. Anschließend erfolgte eine ebenfalls 1ominütige Wässerung. Daraufhin wurden die Präparate mit Glyceringelatine eingedeckt.

2.3.1 Nachweis auf Dehydrogenasen

In Anlehnung an Angaben von ARNOLD (1968) wurde das Inkubationsmedium für

SDH = Succinat Dehydrogenase (succinat: (acceptor) oxidoreductase E.C. 1.3.99.1)

zusammengestellt.

In Anlehnung an Angaben von PEARSE (1968, 1972) wurden die Inkubationsmedien für die folgenden koenzymabhängigen Dehydrogenasen zusammengestellt:

LDH = Lactat Dehydrogenase (L-Lactat: NAD oxidoreductase E.C. 1.1.1.27)

MDH = Malat Dehydrogenase (L-Malat: NAD oxidoreductase E.C. 1.1.1.37)

ICDH = Isocitratdehydrogenase (threo-Ds-Isocitrate: NAD (P) oxidoreductase (decarboxylating) E.C. 1.1.1.41 bzw. E.C. 1.1.1.42)

G-6-PDH = Glucose 6 phosphat Dehydrogenase (D-Glucose-6-phosphate: NADP oxidoreductase E.C. 1.1.1.49)

GlDH = Glutamat Dehydrogenase (L-Glutamat: NAD (P) oxidoreductase (deaminating) E.C. 1.4.1.3

GDH = Glycerin-phosphat Dehydrogenase (L-Glycerol-3-phosphate: NAD oxidoreductase E.C. 1.1.1.8)

SDH-Nachweis:
Die Stammlösung setzte sich zusammen aus:

o,75 ml Na-Succinat (di Na-Salz) o,2 M
o,75 ml Salzlösung
2 ml o,25 M $CaCl_2 \times 6\ H_2O$
2 ml o,o5 M $MgSO_4 \times 7\ H_2O$
2o ml o,6 M $NnHCO_3$
8 ml o,o1 M $AlCl_3 \times 6\ H_2O$
68 ml Aqua dest.

o,2 ml KCN o,1 M
o,2 ml Amobarbital o,1 M

Alle Substanzen wurden in Phosphatpuffer pH 7,4, 1/15 M gelöst.

Die Tetrazoliumsalzlösung bestand aus:

1,5 ml Nitro BT o,o4 M in Phosphatpuffer pH 7,4, 1/15 M gelöst.

Stamm- und Tetrazoliumsalzlösung sowie Pipettenspitzen wurden getrennt auf 37°C vorgewärmt; die Lösungen wurden unmittelbar vor der Inkubation zusammengegeben. Die Inkubationszeiten betrugen zwischen 4o und 6o Minuten.

Nachweis koenzymabhängiger Dehydrogenasen:

Die Stammlösung setzte sich zusammen aus:

75 mg Polyvinylpyrrolidon (PVP)
o,35 ml Phosphatpuffer pH 7,4, 1/15 M
o,1 ml $MgCl_2$ x 6 H_2O, o,o5 M
o,1 ml KCN, o,1 M
o,1 ml Amobarbital o,1 M

Die Tetrazoliumsalzlösung bestand aus:

o,25 ml Nitro-BT, o,o4 M in Phosphatpuffer pH 7,4, 1/15 M gelöst.

Als Koenzyme wurden verwendet:

7,o mg NAD bzw. 5,o mg NADP
NAD für LDH, MDH, GDH, GlDH
NAD und NADP für ICDH
NADP für G-6-PDH

o,1 ml der folgenden 1,o M Substratlösungen wurden verwendet:

L-Glutamat (Na-Salz)
L-Malat (Na-Salz)
L(+)Lactat (Na-Salz)
Glucose-6-Phosphat (di-Na-Salz)

Glycerat-3-Phosphat (tri-Na-Salz)
DL-Isocitronensäure (tri-Na-Salz Dihydrat)

Stammlösung, Tetrazoliumsalzlösung, Koenzym (nicht gelöst) und Substratlösung kamen in getrennte Gefäße und wurden, wie auch die Pipettenspitzen, auf 37°C vorgewärmt. Unmittelbar vor Inkubation wurden die vorbereiteten Lösungen zusammengeschüttet und der pH-Wert kontrolliert. War eine pH-Korrektur erforderlich, so erfolgt sie mit festem Tris bzw. 1N HCl.

Die Inkubationszeiten betrugen:

bei LDH 1o - 2o Minuten
MDH 1o - 2o Minuten
GlDH 2o - 4o Minuten
SDH 4o - 6o Minuten
GDH 4o - 6o Minuten
ICDH 4o - 6o Minuten
G-6PDH 4o - 6o Minuten.

2.3.2 Nachweis auf Proteasen

Der Nachweis auf Proteasen wurde mit dem Substrat APNE geführt, das Inkubationsmedium wurde nach Angaben von BRODMANN (1977) zusammengestellt.

Die Substratlösung setzte sich zusammen aus:

2,o mg N-Acetyl-DL-Phenylalanin-beta-naphtylester (APNE) in
1,5 ml Dimethylformamid (DMFA)
+ 9,o ml Tris/HCL Puffer, pH 7,5, o,o5 M

Das Kopplungsreagenz setzte sich zusammen aus:

4,o mg Fast Blue B salt, gelöst in
1,o ml Tris/HCL Puffer, pH 7,5, o,o5 M

Stammlösung und Kopplungsreagenz wurden auf 37°C in getrennten Gefäßen vorgewärmt und unmittelbar vor der Inkubation zusammengeschüttet.

Die Inkubationszeit betrug 2o - 3o Minuten.

2.3.3 Nachweis auf unspezifische Esterasen

In Anlehnung an Angaben von BURSTONE (1957) wurde das Inkubationsmedium zusammengestellt.

Die Substratlösung setzte sich zusammen aus:

4 mg Naphtol-AS-D-Acetat
1 ml Aceton
1 ml Propylenglykokoll
8 ml Phosphatpuffer, pH 6,5, 1/15 M

Das Kopplungsreagenz setzte sich zusammen aus:

1o mg Echtblau B (Fast Blue B)
1 ml Dimethylformamid (DMFA).

Vor Inkubation wurden die Lösungen zusammenpipettiert und abfiltriert.

Die Inkubationszeit betrug 1o Minuten.

2.4 HE-Färbung

Zur exakten Darstellung der anatomischen Verhältnisse wurden Schnittserien in frontaler und sagittaler Richtung angefertigt. Hierzu wurden formalinfixierte Präparate während drei Wochen in EDTA entkalkt, in Paraffin eingebettet und schließlich mit einem Schlittenmikrotom geschnitten. Die Schnittdicke betrug 5 µm. Sie wurden mit Hämatoxilin/Eosin gefärbt.

Entparaffinierung der Schnitte

HE-Färbung:

- Hämalaun 7 Minuten
- Spülen in Aqua dest.
- Unter fließendem Leitungswasser 15 Minuten bläuen
- Spülen in Aqua dest.
- Eosin 1 Minute
- Differenzieren in 7o % Alkohol
- Aufsteigende Alkoholreihe je 2 Minuten
- Xylol 5 Minuten, 3 mal
- Eindecken in Eukitt.

2.5 Fotografieren der Präparate

Nach dem Eindecken der Präparate in Glyceringelatine wurden die Schnitte umgehend fotografiert, denn schon nach wenigen Tagen verändert sich die Verteilung der Farbpigmente.

Es wurde das Fotomikroskop III, Zeiss, Oberkochen, verwendet. Die Aufnahmen erfolgten auf Agfachrome 5o L professionell-Filmen.

2.6 Bezugsquellennachweis

Von C.F. Boehringer & Söhne, GmbH, Mannheim, wurden bezogen:

Glucose-6-Phosphat (di-Natriumsalz)
Glycerat-3-Phosphat (tri-Natriumsalz)
Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (tri-Natriumsalz), NADP
Succinat (di-Natriumsalz)

Von Fluka AG wurde bezogen:
L(-)Glutaminsäure (mono-Natriumsalz)

Von E. Merck, Darmstadt, wurde bezogen:

Amobarbital (5-äthyl-5-isoamyl Barbitursäure)
N, N-Dimethylformamid (DMFA)
Kaliumcyanid
Calciumchlorid-Hexahydrat ($CaCl_2 \times 6\ H_2O$)
Magnesiumsulfat-Septahydrat ($MgSO_4 \times 7\ H_2O$)
Natriumhydrogencarbonat ($NaHCO_3$)
Aluminiumchlorid-Hexahydrat ($AlCl_3 \times 6\ H_2O$)
Kaisers Glyceringelatine für die Mikroskopie
Propandiol-(1,2) (1,2 Propylenglycol)
Tris (hydroxymethyl) aminomethan (Tris)

Von Mann Research Laboratories, New York, wurde bezogen:

N-Acetyl-DL-Phenylalanin-beta-naphtylester (APNE)

Von Serva-Entwicklungslabor, Heidelberg, wurde bezogen:

L-Äpfelsäure, Natriumsalz
L(+)Milchsäure, Natriumsalz
Fast Blue B salt (Diazo-echtblau B) C.I. 37235
Naphtol-AS-D-acetat
Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD)
p-Nitroblautetrazoliumchlorid (Nitro-BT)
Polyvinylpyrolidon (PVP)

3 ERGEBNISSE

Es wurden Nachweisreaktionen auf die Dehydrogenasen SDH, LDH, MDH, G-6-PDH, GlDH und ICDH, auf unspezifische Esterasen und auf Proteasen geführt.

Die rein subjektiv festgestellten Farbintensitätsverteilungsmuster ließen nur Rückschlüsse auf die relativen Aktivitätsunterschiede der einzelnen Enzyme zu, nicht aber objektive und absolute, quantitative Aussagen über die Höhe der Stoffwechselvorgänge.

Beim Durchmustern und Vergleichen der Präparate konnten lediglich weitgehende Parallelen der Stärke der abgelaufenen Reaktionen in nahezu allen Strukturen bei den Enzymen LDH, MDH und der NAD abhängigen ICDH festgestellt werden. Bei diesen Enzymen traten die größten Intensitäten auf.

Alle anderen Enzyme differierten mit ihren Reaktionen in den einzelnen Strukturen erheblich voneinander. Am schwächsten reagierten bei normaler Inkubationszeit von 4o - 6o Minuten die Enzyme G-6-PDH und SDH.

Die übrigen Enzyme bildeten in ihrem Intensitätsverteilungsmuster einen gleitenden Übergang zwischen diesen beiden Gruppen.

Beim Nachweis auf ICDH wurden sowohl NAD als auch NADP verwendet. Dabei traten sowohl mit NAD wie mit NADP Reaktionen auf, wobei die Reaktionen mit NAD stärker waren.

Kontrollreaktionen ohne Substrat sicherten die Spezifität der bei den verschiedenen Nachweisreaktionen erzielten Ergebnisse. Dabei traten grundsätzlich keine sichtbaren Aktivitäten auf. Braunfärbungen der Nervengewebe ließen sich eindeutig von den spezifischen, enzymabhängigen Reaktionen abgrenzen, die durch blaue Farbtöne gekennzeichnet waren.

3.1 Das Verhalten der Crista ampullares bei den enzymhistochemischen Untersuchungen

Im Bereich des Bogengangapparates traten deutliche Reaktionen im Bereich des Sinnesepithels der Cristae ampullares, der Regiones secretoriae und der zwischen diesen beiden Epithelbezirken liegenden Übergangszone auf.

Beim Sinnesepithel konnte histochemisch in der Regel ein apikaler von einem basalen Teil unterschieden werden, wobei grundsätzlich im apikalen Bereich stärkere Reaktionen auftraten.

Das Übergangsepithel bestand histologisch aus kubischen Zellen und differierte histochemisch nicht vom basalen Teil des Sinnesepithels.

Histochemisch starke Aktivitäten waren in den utriculopetalen und -fugalen Septa transversa zu beobachten. Diese Regiones secretoriae der Cristae ampullares bestanden histologisch aus platten bis kubischen Zellen. Histologisch war keine scharfe Abgrenzung um Übergangsepithel und zum indifferenten endolymphatischen Epithel festzustellen.

Beim Nachweis auf LDH, MDH und NAD abhängigen ICDH traten starke Reaktionen im Bereich des Sinnesepithels auf. Allerdings war zwischen dem apikalen und basalen Sinnesepithel ein deutlicher Kontrast feststellbar; die Intensität der basalen Teile war schwächer. Alle drei Enzyme lagen aber auch innerhalb des sensorischen Epithels in unterschiedlicher Stärke vor. So gab es neben Zellen einer starken Reaktion Zellen, die durch eine noch größere Farbkonzentration auffielen und Bezirke, in denen kaum Farbreaktionen zu erzielen waren. Es fiel auf, daß die einzelnen Zellen größerer Farbkonzentration nur im apikalen Epithelbereich vorkamen.
Insgesamt war die Farbdichte bei MDH und LDH kontinuierlicher als bei der NAD abhängigen ICDH (Abb. 1 und 2).

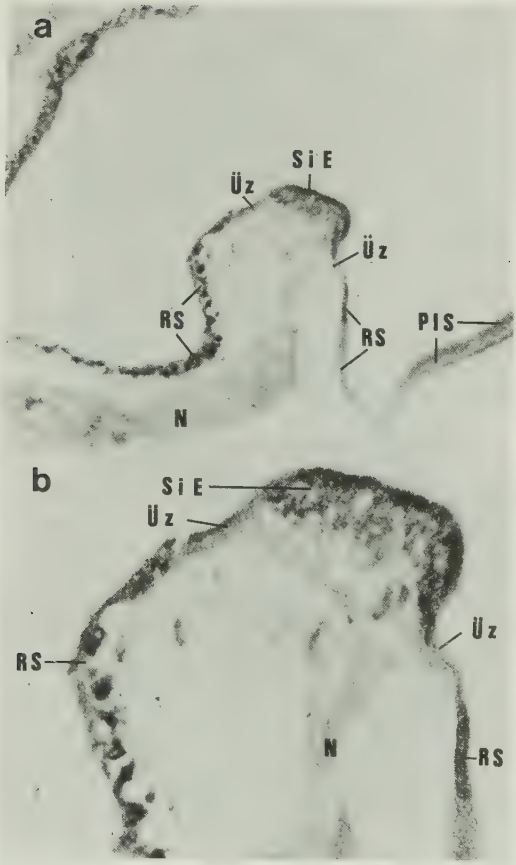


Abb. 1 a, b:

Verteilung der enzymatischen Aktivität in den Cristae ampullares in Frontalschnitten bei Schnittdicke 2o µ bei LDH-Nachweis

Ampulla anterior und Crista ampullaris anterior

a: Inkubationszeit 2o min., Abb.Maßstab 1oo:1, Schnitt-Nr. 2.575.1
b: Inkubationszeit 2o min., Abb.Maßstab 256:1, Schnitt-Nr. 2.575.1

Abkürzungen: SiE=Sinnesepithel, ÜZ=Übergangszone, RS=Regio secretoria, PlS=Planum semilunatum, N=Nerv

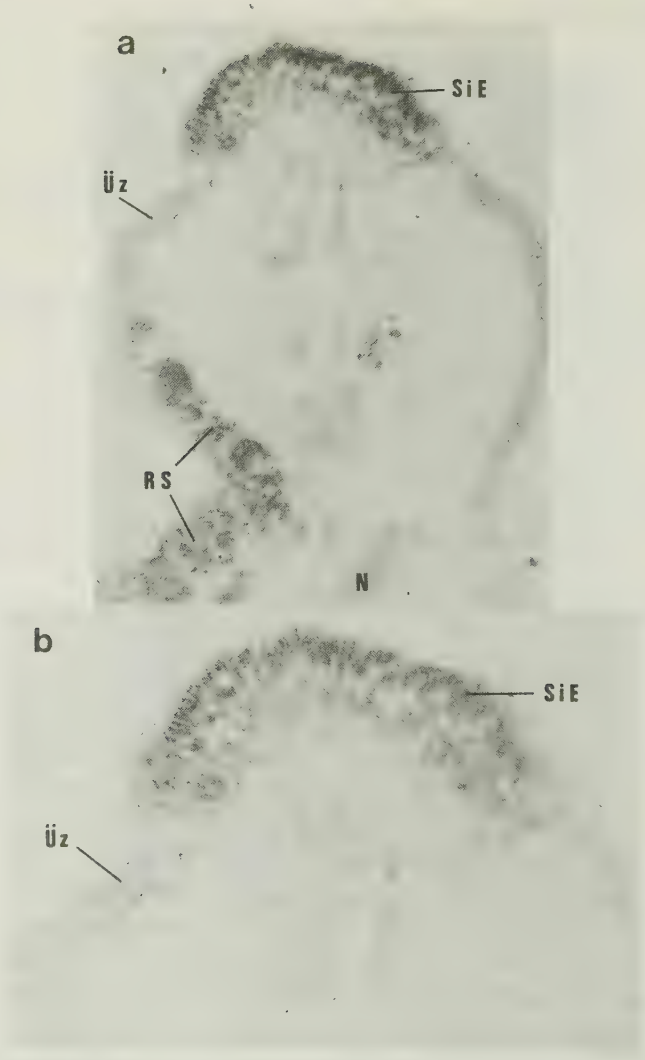


Abb. 2 a, b:

Verteilung der enzymatischen Aktivität in den Cristae ampullares in Frontalschnitten bei Schnittdicke 2o µ bei MDH-Nachweis

Crista ampullaris anterior

a: Inkubationszeit 2o min., Abb.Maßstab 256:1, Schnitt-Nr. 2.617.4
b: Inkubationszeit 2o min., Abb.Maßstab 4oo:1, Schnitt-Nr. 2.617.4

Abkürzungen: SiE=Sinnesepithel, ÜZ=Übergangszone, RS=Regio secretoria, N=Nerv

Die Übergangszone zeigte dieselbe Intensität wie die basalen Sinnesepithelteile und ging histochemisch ohne sichtbaren Übergang daraus hervor.

Die Regiones secretoriae reagierten am intensivsten. Auch hier fielen Zellen auf, die sich gegenüber der Umgebung starker Reaktion, deutlich durch noch stärkere Blaufärbung hervorhoben. Die Epithelbezirke der Regiones secretoriae begannen, histochemisch scharf abgegrenzt vom Übergangsepithel, mit einer deutlichen Zunahme der Farbintensität. Der Übergang zum indifferenten Wandepithel vollzog sich dagegen fließend. Die Anfärbung des Epithels verlor an Intensität, um sich allmählich der schwachen Färbung des Wandepithels anzupassen.

Gegenüber LDH und MDH war die Intensität von NAD abhängiger ICDH im Sinnes- und Übergangsepithel etwas schwächer, ohne allerdings von deutlichen Unterschieden sprechen zu können. Die Intensität im Bereich der Regiones secretoriae war entsprechend LDH und MDH. Der Nachweis auf GDH zeigte apikal eine mittelstarke, basal eine schwache Reaktion. Das Übergangsepithel hob sich durch keinerlei Kontraste gegenüber der basalen Anteilen des Sinnesepithels hervor (Abb. 3a). Eine entsprechend gleichgroße positive Reaktion wie bie LDH, MDH und NAD abhängiger ICDH wiesen dagegen die Regiones secretoriae auf.

Bei GlDH war ein Kontrast zwischen Sinnesepithel, apikaler und basaler Anteil, und dem Übergangsepithel kaum festzustellen. In allen Epithelien zeigte sich eine mittelstarke Farbintensität (Abb. 3b). Stärker war die Reaktion nur in den Regiones secretoriae. Es zeigte sich eine gleichmäßig starke Anreicherung an GlDH in allen Epithelbereichen bis auf die basalen Sinnesepithelbezirke. Hier gab es Stellen, die keine Formazankörnchen enthielten.

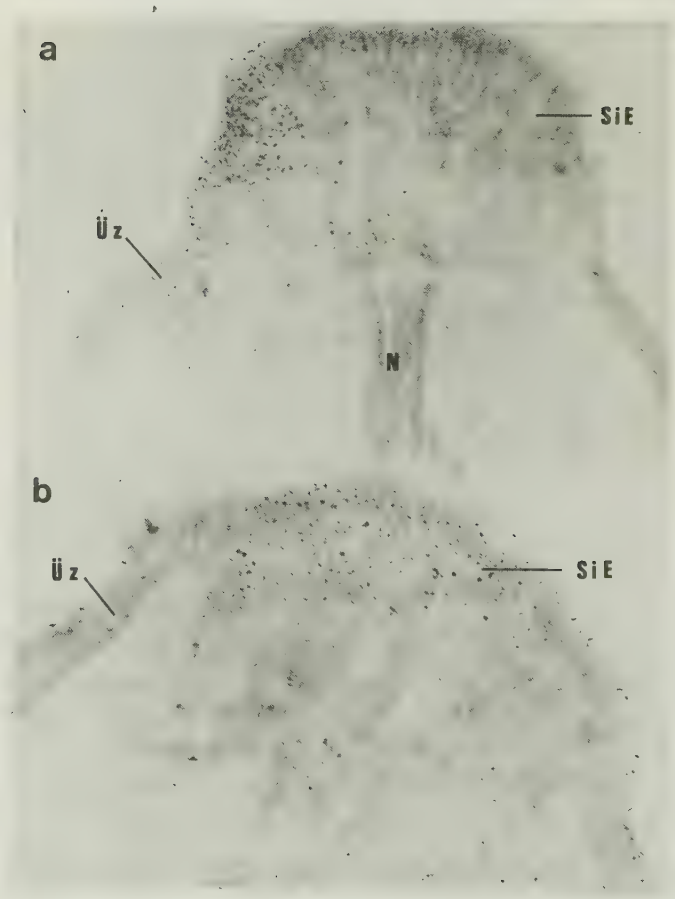


Abb. 3 a, b:

Verteilung der enzymatischen Aktivität in den Cristae ampullares in Frontalschnitten bei Schnittdicke 2o µ bei GDH- und GlDH-Nachweis

Crista ampullaris anterior

a: auf GDH: Inkubationszeit 5o min., Abb.Maßstab 4oo:1, Schnitt-Nr. 2.758.4

b: auf GlDH: Inkubationszeit 3o min., Abb.Maßstab 4oo:1, Schnitt-Nr. 2.6oo.3

Abkürzungen: SiE=Sinnesepithel, ÜZ=Übergangszone, N=Nerv

Farbniederschläge, bedingt durch NADP abhängige ICDH, waren mittelstark im apikalen Sinnesepithel, basal waren die Intensitäten deutlich schwächer. Im Übergangsepithel waren nur noch wenige Formazankörnchen aufzufinden. In den Regiones secretoriae waren deutlich starke Reaktionen erkennbar. Hier konnten auch Stellen mit besonders starken Farbreaktionen lokalisiert werden.

Der Nachweis auf SDH zeigte im Bereich des Sinnesepithels und der Übergangszone nur eine schwache Reaktion. Es kamen Formazangranula im Zytoplasma der apikalen Zellen vor, basal wurden ihre Konzentrationen schwächer. Die Regiones secretoriae wiesen eine starke Intensität auf, wobei die Reaktion nicht in allen Zellen gleich stark ablief.

Die schwächste Reaktion im Vergleich zu den anderen Enzymen zeigte der Nachweis auf G-6-PDH. Die Regiones secretoriae wiesen hier die relativ stärkste Reaktion auf, beim Vergleich mit den anderen Enzymen war die Intensität aber schwach. Im Verhältnis zur Reaktion der Regiones secretoriae war der apikale Sinnesepithelbereich mittelstark angefärbt, das basale Sinnesepithel und die Übergangszone wies eine schwache Reaktion auf.

Beim Nachweis auf Proteasen war im apikalen Sinnesepithel eine mittelstarke Reaktion nachweisbar. Der basale Teil und das Übergangsepithel wies eine deutlich schwächere Intensität auf, sie war aber in allen Epithelbereichen konstant. Ein Übergang zum apikalen sekretorischen Epithel war nicht feststellbar. Hier verlief die Reaktion gleichermaßen schwach wie im Übergangsepithel. Lediglich in den basalen Anteilen war eine starke Reaktion erkennbar.

Die Intensität im Sinnesepithel beim Nachweis auf unspezifische Esterasen war schwach. Im basalen Anteil des Epithels war eine Reaktion nicht eindeutig festzustellen. Auch das Übergangsepithel wies keine eindeutige Reaktion auf. Die Regiones secretoriae zeigten eine starke Reaktion mit Betonung des basalen Randsaumes.

3.2 Das Verhalten der Plana semilunata bei den enzymhistochemischen Untersuchungen

Die Plana semilunata, an den Parietalenden der Cristae ampullares gelegen, wurden histologisch aus Zylinderzellen aufgebaut. Reagierten die Zellen bei den einzelnen Enzymnachweisen positiv, so hatten die Plana semilunata ein halbmondförmiges Aussehen, wobei die Konvexität zur Crista wies.

Das Epithel zeigte einen fließenden Übergang zum indifferenten Wandepithel. An das zylindrische Epithel schloß sich zunächst ein kubisches Epithel an, das sich dann weiter abflachte und im Plattenepithel der Ampullen auslief.

Bei den Reaktionen mit den einzelnen Enzymen kam es zu unterschiedlichen Reaktionen. Dabei ließ das Intensitätsverteilungsmuster der einzelnen Enzymaktivitäten keine analogen Intensitäten bei einem bestimmten der einzelnen, verschiedenen Epithelien der Cristae ampullares erkennen.

Eine sehr starke Reaktion konnte nur beim Nachweis auf MDH beobachtet werden; sie verlief im gesamten Epithel gleichmäßig stark.

Mittelstarke Intensitäten traten beim Nachweis auf LDH und GDH, bei gleichmäßiger Verteilung der Formazankörnchen, auf.

Schwache Reaktionen waren bei G-6-PDH und ICDH ersichtlich. Diese beiden Enzyme waren bevorzugt im basalen Randsaum der Zellen der Plana semilunata eingelagert. Dabei war die Reaktion gleichstark bei NAD und NADP abhängiger ICDH. Bei SDH kam überhaupt keine Reaktion zustande.

Beim Nachweis auf Proteasen war in den Plana semilunata eine etwas eigentümliche Farbreaktion zu erzielen, die bei keinem der anderen Enzyme zu beobachten war.

Zunächst war ein schmaler, basaler Randsaum mittelstark angefärbt; dann folgte eine ebenfalls schmale Epithelzone, die sich parallel auf den basalen Randsaum auflagernd durch das gesamte Planum semilunatum hindurchzog, in der die Zellen auf Proteasen negativ reagierten. Im apikalen Zellteil lag wieder eine, entsprechend dem basalen Randsaum, mittelstarke Farbkonzentration vor. Dieser apikale Farbgürtel war etwa genauso breit wie die beiden erstgenannten Zonen zusammen (Abb. 4).

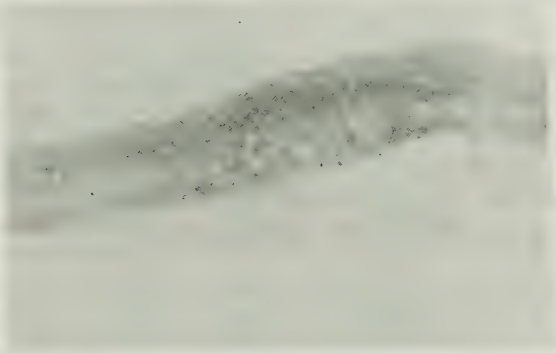


Abb. 4:
Verteilung der enzymatischen Aktivität im Planum semilunatum in einem Frontalschnitt bei Schnittdicke 2o µ bei Nachweis auf Proteasen
Planum semilunatum der Ampulla anterior
Inkubationszeit 3o min., Abb.Maßstab 4oo:1, Schnitt-Nr. 2.591.1

Durch die unspezifischen Esterasen war nur eine geringe Ansammlung von Formazankörnchen sichtbar, wobei die basalen Randstreifen stärker betont waren.

3.3 Das Verhalten von Macula utriculi, Macula sacculi und Macula lagenae bei den enzymhistochemischen Untersuchungen

Auf die Nachweisreaktionen der einzelnen Enzyme verhielten sich die Macula utriculi, Macula sacculi und Macula lagenae entsprechend ähnlich. Bei denselben Enzymen traten nur geringe Unterschiede im Bereich der verschiedenen Otolithenorgane auf, so daß eine gemeinsame Abhandlung durchaus angebracht erscheint.

Beurteilt werden konnte nur der apikale und basale Sinnesepithelteil, die sich durchaus, entsprechend dem Sinnesepithel der Cristae ampullares, unterschiedlich verhielten. Im Gegensatz zu den Cristae traten hier aber keine klar abgegrenzten, dem Sinnesepithel anschließende Epithelbezirke auf. Weder eine Übergangszone noch eine Regio secretoria konnte klar erkannt werden, was aufgrund der bekannten anatomischen und histologischen Untersuchungen am Labyrinth der Teleostier auch nicht unbedingt erwartet werden konnte.

Der Übergang vom Sinnesepithel zum indifferenten Wandepithel war fließend und ließ keine eindeutige Unterscheidung und Beurteilung der perimaculären Randzonen zu.

Beim Nachweis auf LDH trat in allen drei Maculae das gleiche Verteilungsmuster der Formazankörnchen auf. Der apikale Epithelteil wies eine starke Anfärbung auf. Der basale Epithelbereich war etwas enzymärmer. Die Reaktion zeichnete sich durch eine Betonung der apikalen Maculasäume aus, war aber insgesamt sehr stark (Abb. 6a und 7a).

Entsprechend verlief die Reaktion bei MDH. Allerdings waren bei MDH Sinnesepithelbezirke erkennbar, die entweder im Gegensatz zur umgebenden intensiven Enzymreaktion noch stärker oder aber bedeutend schwächer reagierten. Die Formazangranula waren insgesamt unregelmäßiger vereilt (Abb.5a, 6b und 7b).

Die NAD abhängige ICDH verhielt sich den beiden schon angeführten Enzymen ähnlich. Im Sinnesepithel des Utriculus war ebenfalls apikal eine starke, basal eine mittelstarke Anfärbung erkennbar. Bei der Macula sacculi dagegen war aufgrund der gleichstarken Farbanreicherung im apikalen und basalen Sinnesepithel eine gleichgroße Enzymanreicherung ersichtlich. Dagegen fiel die Reaktion im Bereich der Macula lagenae deutlich ab. Hier war apikal nur eine mittelstarke, basal nur eine schwache Reaktion feststellbar.

Auch hier war das Verteilungsmuster der Farbgranula nicht regelmäßig. Die Kontraste zwischen wenig starker, normal starker und extrem starker Anreicherung an Enzym fielen aber weniger auf als bei MDH.

Gleich dagegen war das Verteilungsmuster der Formazankörnchen in allen drei Maculae bei der GlDH. So konnte im apikalen Epithel der Maculae eine mittelstarke, im basalen Teil eine etwas schwächere Reaktion beobachtet werden.

Bei GDH trat im Bereich der Macula utriculi und Macula sacculi apikal und basal eine schwache Reaktion auf. Das Verteilungsmuster der Farbgranula war unregelmäßig, im basalen Epithelbereich war eine Betonung einzelner Bezirke erkennbar (Abb. 5b).

Deutlich schwächer fiel die Reaktion in der Macula lagenae aus. Hier konnte, bis auf einen basalen Randsaum, nicht sicher festgestellt werden, ob apikal und basal überhaupt eine Reaktion stattgefunden hat (Abb. 7c).

Bei der NADP abhängigen ICDH war eine schwache Reaktion im Sinnesepithel von Utriculus und Sacculus festzustellen. Die apikalen Bezirke, insbesondere der Macula sacculi, wiesen eine etwas stärkere Betonung auf, ohne daß sich zwischen beiden Sinnesepithelbereichen eindeutige Kontraste erkennen liessen. Ob in der Macula lagenae eine Reaktion ablief, ließ sich nicht sicher erkennen (Abb. 5c und 6c).

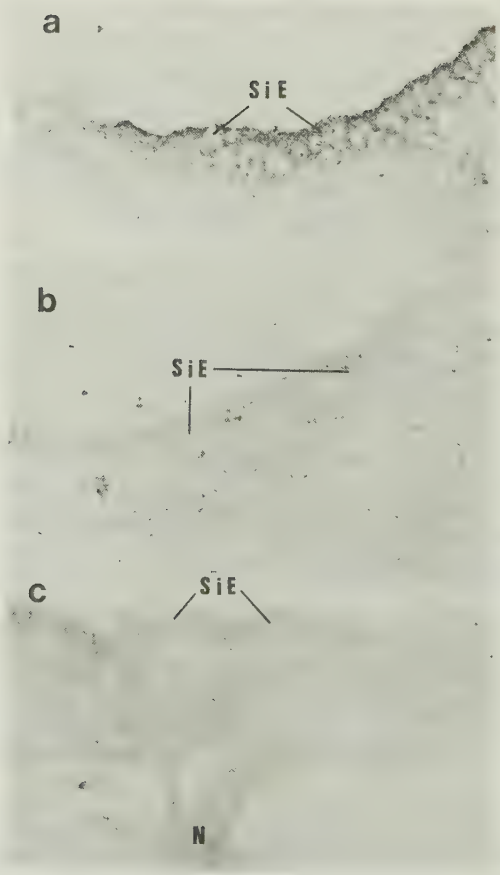


Abb. 5 a - c:

Verteilung der enzymatischen Aktivität im Bereich der Macula utriculi in Frontalschnitten bei Schnittdicke 2o µ bei den Nachweisen

a: auf MDH: Inkubationszeit 2o min., Abb.Maßstab 16o:1, Schnitt-Nr. 2.618.2
b: auf GDH: Inkubationszeit 6o min., Abb.Maßstab 2oo:1, Schnitt-Nr. 2.6o9.3
c: auf NADP abh.ICDH: Inkubationszeit 5o min., Abb.Maßstab 4oo:1, Schnitt-Nr. 2.558.1

Abkürzungen: SiE=Sinnesepithel, N=Nerv

Abb. 6 a - c:

Verteilung der enzymatischen Aktivität im Bereich der Macula sacculi in Frontalschnitten bei Schnittdicke 2o µ bei den Nachweisen

a: auf LDH: Inkubationszeit 2o min., Abb.Maßstab 2oo:1, Schnitt-Nr. 2.578.2
b: auf MDH: Inkubationszeit 1o min., Abb.Maßstab 2oo:1, Schnitt-Nr. 2.52o.4
c: auf NADP abh.ICDH: Inkubationszeit 5o min., Abb.Maßstab 16o:1, Schnitt-Nr. 2.656.2

Abkürzungen: SiE=Sinnesepithel, N=Nerv

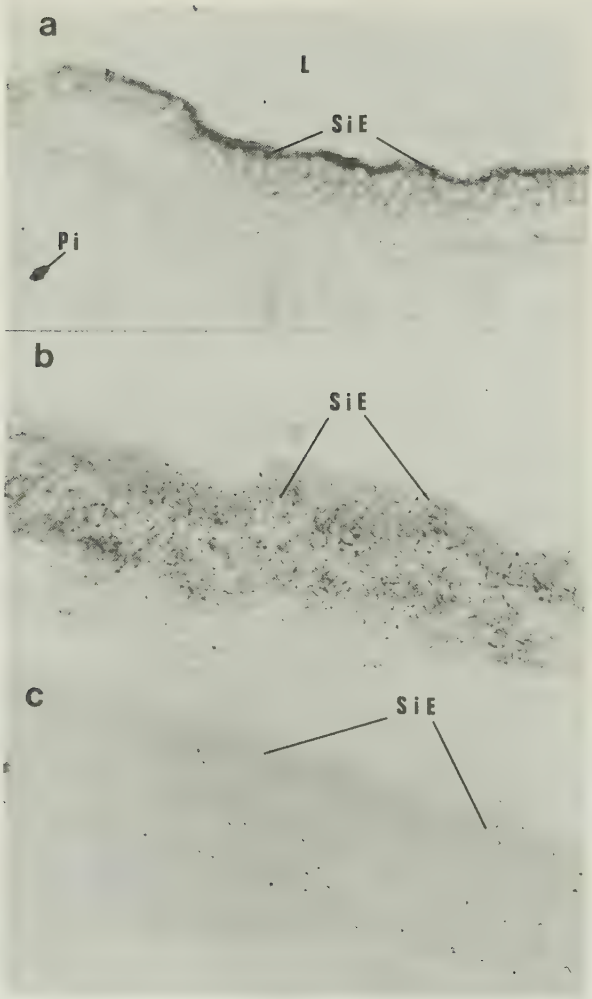


Abb. 7 a - c:

Verteilung der enzymatischen Aktivität im Bereich der Macula lagenae in Frontalschnitten bei Schnittdicke 2o µ bei den Nachweisen

a: auf LDH: Inkubationszeit 15 min., Abb.Maßstab 16o:1, Schnitt-Nr. 2.729.2
b: auf MDH: Inkubationszeit 2o min., Abb.Maßstab 4oo:1, Schnitt-Nr. 2.625.2
c: auf GDH: Inkubationszeit 5o min., Abb.Maßstab 4oo:1, Schnitt-Nr. 2.768.3

Abkürzungen: L=Lagena, SiE=Sinnesepithel, Pi=Pigment

Eine Reaktion auf SDH in der Macula utriculi und Macula sacculi war ebenfalls nicht eindeutig feststellbar, basal war die Reaktion jedenfalls so schwach, daß darauf geschlossen werden konnte, daß hier kein SDH vorlag. Apikal dagegen ließen sich einzelne Formazankörnchen finden. Lediglich in der Macula lagenae konnte im apikalen Sinnesepithelbereich von einer schwachen bis mittelstarken Reaktion gesprochen werden (Abb. 8).

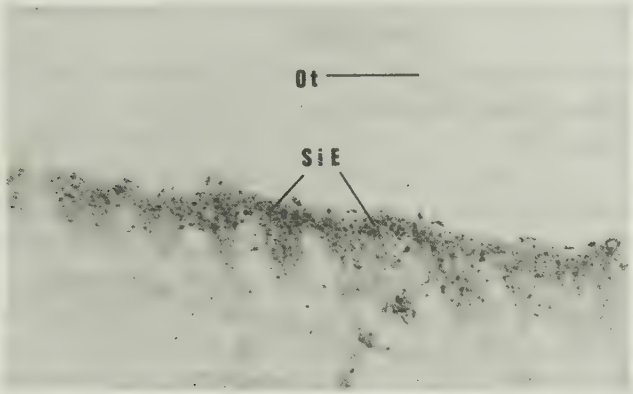


Abb. 8:
Verteilung der enzymatischen Aktivität im Bereich der Macula lagenae in einem Frontalschnitt bei Schnittdicke 2o µ bei SDH-Nachweis
Inkubationszeit 5o min., Abb.Maßstab 4oo:1, Schnitt-Nr. 2.642.6
Abkürzungen: SiE=Sinnesepithel, Ot=Otolith

Unsichere Reaktionen in allen drei Maculae liefen bei der G-6-PDH ab.

Beim Nachweis auf unspezifische Esterasen war in der Macula utriculi, Macula sacculi und Macula lagenae dasselbe Intensitätsverteilungsmuster erkennbar. Sowohl apikal als

auch basal war in allen Sinnesepithelien eine schwache Anfärbung erkennbar. Etwas enzymreicher erschien sowohl der apikale als auch der basale Randsaum.

Stärker dagegen fiel die Reaktion beim Nachweis auf Endopeptidasen mit dem Substrat APNE aus. Im apikalen und basalen Sinnesepithel von Utriculus und Sacculus war eine mittelstarke Reaktion vorhanden. Etwas schwächer fiel die Reaktion in der Macula lagenae aus. Im basalen Epithelbereich war die Enzymverteilung schwach, im apikalen Teil zeigte sich eine etwas intensivere Enzymanreicherung.

3.4 Das Verhalten der Papilla neglecta bei der enzymhistochemischen Untersuchung

In der nur relativ kleinen und schwer auffindbaren siebten Nervenendstelle, am Boden des Utriculus dorsal dem Canalis utriculo-sacculari gelegen, trat wie bei den drei Maculae und den drei Cristae ampullares bei den Nachweisreaktionen auf die einzelnen Enzyme eine Intensität unterschiedlicher Höhe auf. Ebenso wie bei den anderen Sinnesendstellen konnte auch hier deutlich ein unterschiedliches Verhalten des apikalen und des basalen Epithelbereichs festgestellt werden.

Die stärksten Reaktionen traten bei den Enzymen MDH und LDH ein. Dabei wies der apikale Teil der Papilla neglecta bei diesen Enzymen eine starke, der basale Teil eine mittelstarke Intensität auf. Bei MDH folgte dem deutlich reagierenden schmalen basalen epithelialen Randsaum eine ebenfalls schmale Zone mit deutlich weniger Reaktionsprodukten, die dann in den mittelstark angefärbten basalen Zellteil überging. Apikalwärts nahm die Intensität zu, bis eine deutlich starke Reaktion erkennbar war (Abb. 1o a).

Etwas schwächer fiel dagegen die Reaktion von NAD abhängiger ICDH aus, die bei der Papilla neglecta dem Verteilungsmuster der NADP abhängigen ICDH entsprach. Bei der insge-

samt schwachen Reaktion wurde der apikale Randsaum stärker betont.

GDH zeigte nur im apikalen Bereich eine schwache Reaktion, während sich im basalen Epithelbereich keine Formazankörnchen finden ließen.

Unsicher erschien die Reaktion von GlDH. Allerdings konnte im Phasenkontrastmikroskop eine gleichmäßig über die gesamte Papilla neglecta verteilte Ansammlung weniger Farbgranula nachgewiesen werden.

G-6-PDH zeigte in beiden Epithelbereichen eine schwache Reaktion, wobei die Reaktion in einzelnen Zellbereichen etwas stärker ausfiel (Abb. 1o b).

Auf SDH war fast keine Reaktion festzustellen. Nach dem Phasenkontrastmikroskop schienen aber apikal einzelne Formazangranula verteilt zu sein.

Beim Nachweis auf Proteasen und unspezifische Esterasen zeigte das Epithel die gleichen Reaktionen. Die apikale Zone reagierte intensiver als der basale Bereich.

Bei den Proteasen waren einzelne apikale Bezirke stärker angefärbt als die Umgebung. Bei den unspezifischen Esterasen war unterhalb des schwach reagierenden basalen Epithelbereiches eine Betonung des Randstreifens erkennbar (Abb. 9 a und b).

Abb. 9 a, b:

Verteilung der enzymatischen Aktivität im Bereich der Papilla neglecta in einem Frontalschnitt bei Schnittdicke 2o µ beim Nachweis auf unspezifische Esterasen

a: Inkubationszeit 1o min., Abb.Maßstab: 16o:1, Schnitt-Nr. 2.589.2

b: Inkubationszeit 1o min., Abb.Maßstab: 4oo:1, Schnitt-Nr. 2.589.2

Abkürzungen: SiE=Sinnesepithel, U=Utriculus, S=Sacculus

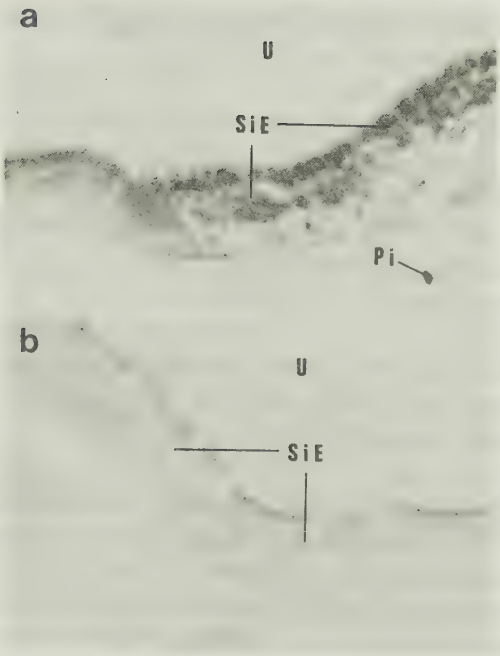


Abb. 1o a, b:

Verteilung der enzymatischen Aktivität im Bereich der Papilla neglecta in Frontalabschnitten bei Schnittdicke 2o µ bei den Nachweisen

a: auf LDH: Inkubationszeit 2o min., Abb.Maßstab: 256:1, Schnitt-Nr. 2.581.1
b: auf G-6-PDH: Inkubationszeit 6o min., Abb.Maßstab: 2oo:1, Schnitt-Nr. 2.777.3

Abkürzungen: SiE=Sinnesepithel, U=Utriculus

3.5 Das Verhalten weiterer Strukturen des Innenohres bei den enzymhistochemischen Untersuchungen

Die Cupulae der Cristae ampullares wiesen bei allen Nachweisen keinerlei Reaktion auf.

Das indifferente Wandepithel verhielt sich auf die Nachweisreaktionen der einzelnen Enzyme unterschiedlich. Schwache Reaktionen traten bei den Nachweisen auf GDH, NAD abhängiger ICDH, MDH, GlDH, LDH, unspezifische Esterasen und Proteasen auf. Bei SDH, NADP abhängiger ICDH sowie G-6-PDH konnten keinerlei Reaktionen erkannt werden.

Die perilymphatischen Wandzellen dagegen reagierten nicht oder zeigten sich so schwach positiv, daß von einer eindeutigen Beurteilung abgesehen wurde.

Nerven blieben meist ungefärbt, nur bei den Nachweisen auf unspezifische Esterasen und auf Endopeptidasen mit APNE fand sich eine spezifische schwache bis mittelstarke Reaktion in diesem Gewebe. Bei den übrigen Nachweisen ließ sich eine Braunverfärbung als unspezifische Reaktion charakterisieren.

3.6 Tabellarische Darstellung der Ergebnisse

	MDH	LDH	ICDH (NAD)	ICDH (NADP)	GDH	G1DH	SDH	G6PDH	unsp. Ester.	Prot.
Cristae ampullares										
Sinnesepithel apikal	+++	+++	+++	++	++	++	+	++	+	++
basal	++	++	++	+	+	++	+	+	(+)	+
Übergangszone	++	++	++	(+)	+	++	+	+	(+)	+
Regio secretoria	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Macula utriculi										
Sinnesepithel apikal	+++	+++	+++	+	+	++	(+)	(+)	+	++
basal	++	++	+++	+	+	++	0	(+)	+	++
Macula sacculi										
Sinnesepithel apikal	+++	+++	+++	++	+	++	(+)	(+)	+	++
basal	+++	++	+++	+	+	++	0	(+)	+	++
Macula lagenae										
Sinnesepithel apikal	+++	+++	+++	+	(+)	++	+	(+)	+	++
basal	++	++	+++	(+)	(+)	++	(+)	(+)	+	+
Papilla neglecta										
Sinnesepithel apikal	+++	+++	++	++	+	+	(+)	+	++	++
basal	++	++	+	+	0	(+)	0	(+)	+	+
Planum semilunatum	+++	++	+	+	++	+	0	+	+	++
Nerven	(+)	(+)	0	0	0	0	0	0	+	++
Endolymphatisches Epith.	+	+	+	+	0	(+)	0	0	0	0
Inkubationszeiten	1o-2o'	1o-2o'	4o-6o'	4o-6o'	4o-6o'	2o-4o'	4o-6o'	4o-6o'	1o'	25-3o'

0 keine Reaktion, (+) unsichere Reaktion, + schwache Reaktion, ++ mittlere Reaktion, +++ starke Reaktion

4 DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Um enzymhistochemische Untersuchungen durchführen zu können, ist es von besonderer Bedeutung, Verhältnisse anzutreffen, die dem lebenden Gewebe möglichst nahe kommen. So wurde von GIEBEL und PLESTER (1971) darauf hingewiesen, Enzymnachweise an nativen Schnitten durchzuführen, da besonders koenzymabhängige Dehydrogenasen durch Fixieren und Entkalken stark beeinträchtigt werden. Um diese Voraussetzung zu erfüllen, wurde die oben beschriebene Gefriertechnik angewandt. Sie bietet eine gute Möglichkeit, um unfixierte und unentkalkte Gefrierschnitte zu erhalten, eine ausreichende Strukturerhaltung zu erzielen und mit kurzen Inkubationszeiten auszukommen.

Im Innenohr der Forelle ließen sich in quantitativer Hinsicht alle untersuchten Enzyme nachweisen, in qualitativer Hinsicht ergaben sich deutliche Unterschiede.

Beim Vergleich der Stärke der abgelaufenen Enzymreaktionen wurde der bei jedem einzelnen Enzym am stärksten reagierende Epithelabschnitt als Ausgangswert gewählt. Mit diesem Epithelbezirk starker Reaktion wurden andere Epithelbereiche gleichstarker oder schwächerer Reaktion verglichen, wodurch sich die Abstufung starke, mittlere, schwache, unsichere und keine Reaktion ergab. Bei allen Enzymen war der am stärksten reagierende Labyrinthbereich die Regio secretoria um die jeweilige Crista ampullaris.

SCHWERT, NEURATH und KAUFMANN (1948) zeigten, daß für den Nachweis chymotryptischer Aktivität Esterverbindungen mit der Carboxylgruppe der spezifischen Aminosäure (wie Tyrosin, Tryptophan und Phenylalanin) größere Empfindlichkeit besitzen als die entsprechenden Amidderivate.

Bei den vorliegenden Untersuchungen wurden die spezifischen Nachweise proteolytischer Aktivität mit dem Aminosäureester APNE geführt, wobei sich APNE für den Nachweis

chymotryptischer Aktivität eignet, allerdings auch von Trypsin und Esterase gespalten wird. So besteht durchaus die Möglichkeit, daß sich unter dem Einfluß einer Esteraseaktivität der auf proteolytische Aktivität spezifische Nachweis mit APNE verfälscht.

Quantitative Untersuchungen von BRODMANN und GIEBEL (1978) erbrachten jedoch ein Verhältnis der Aktivitäten von Chymotrypsin und Esterase gegenüber APNE von 55:1, was bedeutet, daß APNE von Chymotrypsin 55 mal schneller gespalten wird als Esterase. Somit dürfte der größte Teil der APNE-Spaltung bei den angewandten kurzen Inkubationszeiten auf proteolytische Aktivität zurückzuführen sein.

Die histochemischen Ergebnisse lassen erkennen, daß die Zellen der Sinnesepithelien sowie der spezifisch differenzierten Epithelien des endolymphatischen Raumes die Fähigkeit der Energiegewinnung über die Glykolyse und den Citratcyclus besitzen. Die für den Citratcyclus charakteristischen Enzyme MDH, ICDH und SDH finden sich in den Regiones secretoriae in großer Menge, während SDH in den Sinnesepithelien und den Plana semilunata in geringerer Konzentration vorlag. Dabei kommt dem SDH eine Kontrollfunktion des Citratcyclus zu. So liegt auf der Stufe der SDH der letzte physiologisch wichtige Kontrollpunkt des Citratcyclus, wobei das Enzym durch Oxalacetat im Sinne einer "feed-back" Hemmung gehemmt wird.

Unter anaeroben Bedingungen wird LDH zur Umwandlung von Pyruvat in Lactat benötigt. Dieses Enzym ist in allen Epithelien in großer Menge vorhanden, so daß bei den einzelnen Epithelien der Glucoseabbau über die anaerobe Glykolyse ablaufen dürfte. Die Zellen des Forellenlabyrinths scheinen weder zur Nucleotid- oder Nucleinsäurebiosynthese noch zur Fettsäure- oder Steroidproduktion befähigt zu sein. Das ergibt sich daraus, daß in allen Epithelbereichen G-6-PDH, ein wichtiges Enzym des Pentosephosphatcyclus, sich nicht sicher nachweisen läßt.

Enzyme des Aminosäurestoffwechsel, MDH und GlDH und die Proteasen zeigen in den Regiones secretoriae und den basalen Sinnesepithelbereichen eine mittelstarke Reaktion, was auf eine sekretorische Aktivität auch der Stützzellen hinweisen könnte (s.u. These von SCHÄTZLE, 1971).

Ergebnisse früherer enzymhistochemischer Untersuchungen am vestibulären Labyrinth höherer Wirbeltiere können in qualitativer Hinsicht durch die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigt werden. Da größtenteils aber mit anderen Methoden gearbeitet werden, zwischen dem Labyrinth der Fische und dem anderer Tierklassen teilweise erhebliche Differenzen bestehen und nicht zuletzt, da eine uneinheitliche Nomenklatur eine Interpretation erschwert, müssen Vergleiche in quantitativer Hinsicht kritisch betrachtet werden. Die Ergebnisse der enzymhistochemischen Untersuchungen am Innenohr des Frosches von HAGMANN und GIEBEL (1978) variieren, unter Berücksichtigung der nur subjektiv festgestellten Intensitäten der abgelaufenen Reaktionen sowie der anderen Epithelbezirke aufgrund verschiedener Tierklassen, kaum.

Auch beim Vergleich der Ergebnisse der Untersuchungen am vestibulären Labyrinth des Meerschweinchens von NOMURA und BALOGH (1964) ergaben sich bei den entsprechenden Strukturen und gleichen Enzymen nur bei GlDH und G-6-PDH grundlegende Differenzen. So scheint der Pentosephosphatcyclus bei niedereren Wirbeltieren, wie bei der Forelle, in weitaus geringerem Ausmaß, der Aminosäurestoffwechsel in größerem Ausmaß abzulaufen als bei den Säugetieren. Die Arbeit von SCHÄTZLE und WESTERHAGEN (1966) beim Meerschweinchen weist bezüglich der unspezifischen Esterase eine ähnliche Verteilung wie bei der Forelle aus, wobei allerdings in den Sinnesepithelien beim Meerschweinchen stärkere Reaktionen auftraten. Ebenfalls beim Meerschweinchen beschrieb IMOKAWA (1959), im Gegensatz zu den Ergebnissen dieser Arbeit, im Sinnesepithel der Cristae ampullares auf SDH-Nachweis eine starke Reaktion; die Übergangszone verhielt sich entsprechend wie bei der Forelle.

Speziell das histochemische Verhalten der Übergangszone der Crista ampullares beim Meerschweinchen wurde von MIRA und DAL NEGRO (1969) untersucht. Auch beim Vergleich mit dieser Arbeit stimmen die Ergebnisse mit denen der vorliegenden Untersuchung im wesentlichen überein. Die größten Abweichungen ergaben sich wiederum bei G-6-PDH und GlDH, wobei beim Meerschweinchen für G-6-PDH eine stärkere, für GlDH eine schwächere Reaktion beschrieben wurde als bei der Forelle beobachtet werden konnte.

Bei Untersuchungen am Hund von MIRA (1966) finden sich, auch beim Vergleich mit dem Übergangsepithel des Meerschweinchens, andere Werte für die Übergangszone. Bei allen gemeinsam untersuchten Enzymen traten beim Hund stärkere Reaktionen im Planum semilunatum auf, während bei der Forelle die Regiones secretoriae stärker reagierten. Zu grundsätzlich anderen Ergebnissen kam es nur wieder bei G-6-PDH und GlDH, wobei bei der Forelle in allen Epithelbezirken G-6-PDH deutlich schwächer war und GlDH in höherer Konzentration vorlag als beim Hund.

Bei der Arbeit von VINNIKOV, TITOVA und ARONOVA (1965) über die Verteilung der Cholinesterase im Ohr einiger Wirbeltiere wurde auch das Labyrinth der Süßwasserknochenfische Karpfen und Hecht untersucht. Die Butyrilcholinesterase (BChE) fand sich im gesamten Labyrinth diffus verteilt mit deutlicher Erhöhung der Aktivität in den Randzonen der Cristen, den Regiones secretoriae, allerdings nur beim Karpfen. Eine entsprechende perimaculäre Reaktion bei einer der drei Maculae wurde nicht gefunden.

Auch in der vorliegenden Arbeit wurden die jeweils stärksten Reaktionen der untersuchten Enzyme in den Regiones secretoriae beobachtet, eine perimaculäre Aktivitätssteigerung war ebenfalls nicht zu erzielen.

Die Aktivität der Acetylcholinesterase (AChE) war nach VINNIKOV, TITOVA und ARONOVA (1965) bei beiden Fischarten

in allen Maculae und Cristae besonders deutlich, wobei sie in verschiedenen Maculabereichen unterschiedlich stark ausfiel. Entsprechendes konnte bei den untersuchten Enzymen dieser Arbeit bei der Forelle nicht beobachtet werden.

Andere enzymhistochemischen Untersuchungen, wie von SCHÄTZLE und WESTERHAGEN (1967) oder EGGEMANN und BRUCHMÜLLER (1968) beim Meerschweinchen, von VINNIKOV und TITOVA (1962) u.a. beim Hecht und Karpfen oder LOTZ und KUHL (1968) in vestibulären Abschnitten des Innenohres von Mensch, Meerschweinchen, Kaninchen, Katze und teilweise der Ratte, können nicht zu direkten Vergleichen herangezogen werden, da entweder andere, nicht in der vorliegenden Arbeit untersuchten Enzyme verwandt wurden oder keine Angabe über die Quantität abgelaufener Reaktionen gemacht wurde, da andere Gesichtspunkte bestimmend waren.

Beim Vergleich der Untersuchungsergebnisse ergibt sich eine besondere Schwierigkeit bei den Epithelzonen der Ampullen, die von den Autoren sehr abweichend bezeichnet werden. Insbesondere der von STREIFENSAND (1835) mit Planum semilunatum bezeichnete Epithelbezirk wird unterschiedlich weit gefaßt. Diese Zone wird im allgemeinen mit Resorptions- und Sekretionsprozessen in Verbindung gebracht. Das erscheint stammesgeschichtlich insofern von Bedeutung, als bei niedereren Wirbeltieren eine Schnecke mit den entsprechenden Sekretionsbezirken wie Stria vascularis, Sulcus spiralis externus, Prominentia spiralis und Reißnersche Membran fehlt. So scheint der von BORGHESAN (1962) als "Pavement of planum" bezeichnete Epithelbezirk der von IWATA (1924) bei der Fledermaus benannten Regio secretoria zu entsprechen, die, an den Abhängen der Cristae und um die Maculae gelegen, sich lichtmikroskopisch ähnlich den Zellen der Stria vascularis verhält. KIMURA, LUNDQUIST und WERSÄLL (1964) fanden elektronenmikroskopisch beim Meerschweinchen gegenüber den Zellen der Stria vascularis doch erhebliche Unterschiede und bezeichneten die Epithelzonen um die Cristae und Maculae neutraler als Dunkelzellzone.

DE BURLET (1934) beschrieb unter dem Begriff Regiones secretoriae entsprechende Epithelien am Frosch und HAZAMA (1924) unter anderem auch bei der Forelle.

Nach RUDERT (1966) umfaßt der Begriff Regio secretoria beim Meerschweinchen die Übergangszone, das Planum semilunatum und die "dunklen Zellen".

Nach Untersuchungen von BORGHESAN (1961) am Hasen sind die Zellen an der Cristabasis recht unterschiedlich und teilweise mit Vesikeln und Granula vollgepfropft, was nur auf Sekretion hindeuten kann. Auch DOHLMAN, ORMEROD und MC LAY (1959) kamen zu dem Schluß, daß um die Cristae ein Sekretionsgebiet liegt.

Nach einer Arbeit von NAKAI und HILDING (1968) legen die strukturellen Eigenschaften der dunklen Zellen der Ampulle den Gedanken nahe, daß sie an der Produktion von Endolymphe teilnehmen. DOHLMAN (1964, 1969) kam zu dem Schluß, daß die hellen Zellen eine sekretorische, glykoprotein-produzierende, die dunklen Zellen eine exkretorische und ionentransportierende Funktion haben.

Bestärkt wird die Annahme, daß diese Zellen an Sekretionsvorgängen teilnehmen, durch die vorliegende Arbeit insofern, als diese Epithelbezirke bei der Forelle, rückschliessend auf die hohe Enzymkonzentration, neben den Sinnesepithelien sehr stoffwechselaktiv sind. Daß die ablaufenden Stoffwechselvorgänge in diesen beiden Epithelbereiche, obwohl mit ähnlicher Enzymkonzentration ausgestattet, nicht derselben Funktion dienen können, beweisen elektronenmikroskopische Untersuchungen von BAIRATI und IURATO (1960) am Planum semilunatum der Ratte, von KIMURA, LUNDQUIST und WERSÄLL (1964) am sekretorischen Epithel des Meerschweinchens und von LÖWENSTEIN, OSBORNE und WERSÄLL (1964) am Sinnesepithel des Rochens, von RAUCHBACH und ARENBERG (1972) am Hai, wonach es sich um total unterschiedliche Zellstrukturen handelt.

Als Planum semilunatum in der vorliegenden Arbeit wurde das Gebiet bezeichnet, das BORGHESAN (1962) als "wing of planum semilunatum" bezeichnete. Hier war die Enzymverteilung deutlich schwächer als in den Regiones secretoriae.

Der Nomenklatur von KIMURA, LUNDQUIST und WERSÄLL (1964) und MIRA und DAL NEGRO (1969) folgend, wird die Zone zwischen Sinnesepithel der Cristae ampullares und den Regiones secretoriae als Übergangszone bezeichnet. Nach FIEANDT und SAXEN (1937) und SAXEN (1951) sind die perimaculären Randzonen, nach SMITH (1956) die Fortsetzung der Stützzellen, morphologisch und strukturell gleich den Plana semilunata der Ampullen.

Die Angaben von SMITH (1956) werden durch die vorliegenden Untersuchungen insofern gestützt, als bei den Cristae ampullares, bei denen eine Übergangszone im Gegensatz zu den Maculae deutlich erkennbar war, zwischen den apikalen Epithelbezirken und der Übergangszone histochemisch gleich starke Reaktionen abliefen, die auf ähnliche Enzymausstattung schließen läßt.

Aufgrund des gleichen histochemischen Verhaltens und unter der Voraussetzung, daß den Zellen der Übergangszone unter Umständen eine sekretorische Funktion zukommt, wie ISHIYAMA, CUTT und KEELS (1970) nach phasenkontrast- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen am Schwein berichten, wird die These von SCHÄTZLE (1971) erhärtet, wonach auf niederer Differenzierungsstufe die Stützzellen nicht nur stützende Funktion besitzen, sondern ihnen auch eine sekretorische Aufgabe zukommt. Diese wird im Zuge der Entwicklung zur Säugetiercochlea an die Limbusepithelien abgegeben. An diesen Limbusepithelien des Cortiorganes wies IURATO (1960) Granula nach. Nach Meinung SCHÄTZLE's (1971) scheint diese primitive Doppelfunktion in den Stützzellen des Vestibularisapparates der Säugetiere noch erhalten zu sein, was durch die Untersuchungen von WERSÄLL (1956, 1967) und

BAIRATI (1960) an den Stützzellen der Crista ampullaris des Meerschweinchens bestätigt wird. Ebenfalls an den Stützzellen, sowohl des Cortiorgans als auch der Papilla basilaris, bei den Vögeln wies JAHNKE, LUNDQUIST und WERSÄLL (1969) elektronenmikroskopisch Vesikel und Granula nach.

Allerdings konnte in der vorliegenden Arbeit weder eine Ansammlung von Enzymen in einer Cupula- oder Maculagallerte, wie sie SCHÄTZLE (1971) beim Nachweis alkalischer Phosphatase beim Meerschweinchen fand, noch eine Anreicherung einzelner Enzyme in der Otolithenmembran, wie HAGMANN (1971) beim Frosch angibt, beobachtet werden.

Die bei höheren Tieren und auch bei einzelnen Fischen beschriebenen perimaculären Zonen konnten bei der Forelle nicht gefunden werden. Davon ausgehend, daß schon HAZAMA (1929) sehr unterschiedliche Ausdehnungen der Regiones secretoriae um die Maculae beschrieb und daß WEVER (1974) zwar den Teleostiern das unter den Fischen in der Evolution fortschrittlichste Ohr zuschreibt, aber sie dennoch in fünf unterschiedliche Gruppen einteilt, dabei die Salmonidae in der Gruppe ohne jede spezielle Ohrstruktur, war eine deutliche Regio secretoria um eine der Maculae nicht unbedingt zu erwarten.

Für eine räumliche Stellung einzelner Epithelien, entsprechend eines Sensibilitätsunterschiedes dominater und subordinater Teile (MYGIND 1948, 1949), als auch eine charakterisierende regionale Gliederung zweier verschiedener Sinnesepithelarten (WERNER 1974), konnten histochemisch keine Hinweise gefunden werden, wohl aber eine deutliche Polarisierung in apikale und basale Bereiche. Hieraus könnte man auf eine unterschiedliche Reaktion der Haar- und Stützzellen schließen. Allerdings ist es unmöglich, Sinneszelle und Stützzelle morphologisch exakt voneinander zu trennen, da nur ein schmaler Zytoplasmasaum

die basal gelegenen Kerne der Stützzellen umgibt, während Zytoplasmaausläufer die Haarzellen lumenwärts begleiten.

Zwischen den Sinnesepithelien und den Otolithen und zwischen den Sinneszellen der Cristae ampullares und der Cupula befindet sich ein loses Netzwerk eines Deckgewebes, in das die Stereo- und Kinozilien der Haarzellen hineinragen (WEVER 1973 a). Durch Bewegungen diser Schicht werden die Haar- oder Sinneszellen erregt. In dieser Deckschicht konnte genauso wenig wie in der Otolithenmembran eine Enzymanreicherung gefunden werden.

Ein unterschiedliches Größenverhältnis von Macula sacculi (5 bis 2o mal größer) gegenüber Macula utriculi und lagenae ist bei den Schnellschwimmern, wie den Salmonidae, nach MYGIND (1969) vorhanden. Macula utriculi und Macula lagenae sind etwa gleich groß. Ohne die exakten Größen ausgemessen zu haben, kann das unterschiedliche Größenverhältnis bestätigt werden. Auch der Otolith des Sacculus war bedeutend größer; er füllte das freie Lumen des Sacculus vollständig aus. Der Otolith des Utriculus und der Lagena besaß im Vergleich zum Sacculusotolith geringere Ausmaße.

Über die Frage des Hörens oder die Entwicklung eines spezifischen Hörorgans, wie die Cochlea bei höheren Wirbeltieren, gibt die vorliegende Arbeit keine Hinweise. Aufgrund von Untersuchungen von CORWIN (1977) beim Hai kommt der Papilla neglecta eine Hörfunktion zu, die aber, übernommen auf andere Fische, kritisch interpretiert werden muß, da beim Hai ein anatomisch anders gebildetes Ohr vorliegt. So wird bei den Ostariophysen die Macula sacculi zum Hörorgan umfunktioniert und bei den Clupeiden die Macula utriculi. Entscheidend dabei ist die Zuführung von Druckschwankungen über einen perilymphatischen Raum, wie es bei den Landwirbeltieren die Regel ist (DE BURLET 1929). Das ist aber bei der Forelle nicht der Fall. Eine Schallleitung bei Fischen und im Wasser lebenden Tieren ist nach

WEVER (1974) insofern vereinfacht, da die Endolymphe und das Deckgewebe fast dieselbe Dichte und dasselbe Schallverhalten zeigen wie das die Tiere umgebende Wasser. Bei landlebenden Tieren bedurfte es erst der Entwicklung eines Schalleitungsapparates.

Bei den Amphibien übernimmt die zweigeteilte Papilla neglecta (CORWIN 1977) die Hörfunktion. Dabei spricht nach WEVER (1973 b) die Papilla basilaris auf höhere Frequenzen, die von SARASIN (1892) erstmals beschriebene, in einem Recessus des Sacculus liegende Papilla amphibiorum auf tiefere Töne an.

Papilla basilaris und Lagena werden bei höheren Wirbeltieren in einen gemeinsamen Recessus hineinverlagert (DE BURLET 1934). NACH JAHNKE, LUNDQUIST und WERSÄLL (1969) erweitert sich der Recessus bei Reptilien und Vögeln in eine verlängerte Tube, die die umgebende Perilymphe in zwei Räume unterteilt,die Scala tympani und Scala vestibuli, entsprechend den höheren Wirbeltieren. Aus der Papilla basilaris entwickelt sich das Cortiorgan (WESTON 1939).

Eine entsprechend höhere Aktivität der basalen Zellen der Papilla neglecta im Vergleich zu den Sinnesepithelien, wie sie HAGMANN (1977) insbesondere bei der Papilla amphibiorum, aber auch der Papilla basilaris bei einzelnen Enzymen beobachten konnte, wurde bei der Forelle nicht festgestellt. Auch bei keiner der Maculae konnte ein entsprechendes Verhalten gefunden werden.

Abgesehen von den unterschiedlichen Tierklassen kann ein solches Verhalten eventuell auf die Frage des Hörens hinweisen, das bei den Amphibien in diesen beiden Papillae stattfindet. Allerdings kann dieses Verhalten der basalen Zellen auch entsprechend der These von SCHÄTZLE (1971) etwas mit einer erhöhten Sekretionsleistung zu tun haben.

So konnte auch, im Gegensatz zum Frosch, weder eine stärkere Intensität basaler Zellen noch eine Reaktion in der Otolithenmembran der Forelle beobachtet werden.

5 ZUSAMMENFASSUNG

An unfixierten und unentkalkten Gefrierschnitten wurden die einzelnen Epithelbezirke des Innenohres der Forelle enzymhistochemisch untersucht. Es konnten, ähnlich wie in den vestibulären Anteilen der Ohren höherer Tiere, in den Ampullen die Sinnesepithelien der Cristae ampullares, die Übergangszone, die Regiones secretoriae und die Plana semilunata, im Utriculus die Macula und die Papilla neglecta sowie im Sacculus und in der Lagena die entsprechende Macula unterschieden werden.

Um die einzelnen Maculae konnte eine perimaculäre Randzone, wie Übergangszone oder Regio secretoria, nicht identifiziert werden.

In allen Sinnesepithelien traten bei allen Nachweisreaktionen enzymatische Aktivitäten auf, die bei den einzelnen Enzymen unterschiedlich stark waren. Es war eine deutliche Polarisation zwischen apikalem und basalem Sinnesepithelbereich erkennbar, was sich vermutlich mit einem differenzierten Verhalten von Stütz- und Sinneszelle erklären läßt.

Die Übergangszone verhielt sich wie der basale Sinnesepithelbereich. Die Reaktion war deutlich schwächer als im Sinnesepithel oder in den Regiones secretoriae. Die stärksten Reaktionen traten in den Regiones secretoriae auf; hier waren alle Enzyme nachweisbar.

Die Plana semilunata zeigten eine etwas schwächere Enzymaktivität als die Sinnesepithelien oder die Regiones secretoriae.

Macula- oder Cupulagallerte sowie Otolithenmembran wiesen keinerlei Reaktion auf.

Die Enzyme des Citratcyclus ICDH, SDH und MDH waren in den Regiones secretoriae in starker Konzentration vorhanden,

im Sinnesepithel war der Nachweis auf SDH nur schwach positiv.

Das Enzym der anaeroben Glykolyse LDH wies in allen Epithelien eine starke Aktivität auf, mit besonderer Betonung der apikalen Sinnesepithelbereiche, der Regiones secretoriae sowie der Plana semilunata. So scheint die anaerobe Glykolyse diesen Zellen die notwendige Energie zu liefern.

Der Nachweis auf G-6-PDH fiel in allen Epithelbereichen schwach oder negativ aus, woraus zu schließen ist, daß dem Pentosephosphatcyclus (Bildung von Pentosen für die Nukleosidsynthese und NADP-Bildung für die Fettsäuresynthese und Steroidproduktion) bei dieser Spezies keine wesentliche Bedeutung zukommt.

Mittelstarke Konzentration der Enzyme des Aminosäurestoffwechsels MDH und GlDH sowie der Proteasen auch in den basalen Sinnesepithelanteilen erhärten die These einer sekretorischen Aktivität der Stützzellen auf niederer Differenzierungsstufe.

6 LITERATURVERZEICHNIS

AHRENS, W.: Mikroskopische Untersuchung der Otolithen des Fischlabyrinths am nach Spalteholz aufgehellten Totalpräparat;
Mikrokosmos, Stuttgart 39, 85 - 92 (1950)

ARNOLD, M.: Histochemie;
Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1968

BAIRATI, A.: Récentes connaissances sur la structure submicroscopique des organes du vestibule;
Acta oto-laryng. (Stockh.) Suppl. 163, 9 - 25 (1960)

BAIRATI, A. and S. IURATO: The ultrastructure organisation of "plana semilunata";
Exp. Cell. Res. 20, 77 - 83 (1960)

BAIRD, I. L.: Anatomical features of the inner ear in submammalian vertebrates.
In: Handbook of sensory physiology.
ed. W. D. KEIDEL and W. D. NEFF;
Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1974,
Vol. V/1, 159 - 212 (1974)

BIERBAUM, G.: Untersuchungen über den Bau der Gehörorgane von Tiefseefischen;
Zeitsch. wiss. Zool. 111, 281 - 380 (1914)

BORGHESAN, E.: Glandular structures in the planum semilunatum;
Acta oto-laryng. (Stockh.) 53, 285 - 289 (1961)

BORGHESAN, E.: The reticular zone of the "planum semilunatum";
Acta oto-laryng. (Stockh.) 54, 27 - 32 (1962)

BRODMANN, G.: Histochemische Untersuchungen zur Funktion und Verteilung der Boettcherschen Zellen in der Goldhamstercochlea;
Dissertation, Tübingen (1977)

BRODMANN, G. und W. GIEBEL: Histochemische Untersuchungen zur Funktion und Verteilung der Boettcherschen Zellen in der Goldhamstercochlea;
Arch. Oto-Rhino-Laryng. 220, 105 - 116(1978)

BURLET, H. M. DE: Über die papilla neglecta;
Anat. Anz. 66, 199 - 209 (1928)

BURLET, H. M. DE: Anatomisches zur Hörfähigkeit der Siluroiden;
Z. Anat. u. Entwickl.-Gesch. 89, 11 - 27 (1929)

BURLET, H. M. DE: Die innere Ohrsphäre
In: Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere
ed. L. BOLK, E. GÖPPERT, E. KALLIUS, W. LUBOSCH;
Urban & Schwarzenberg, Berlin u. Wien, Bd. 2,
2. Hälfte, 1293 - 1380 (1934)

BURSTONE, M. S.: The cytochemical localisation of esterase;
J. nat. Cancer Inst. 18, 167 - 172 (1957)

CORWIN, J. T.: Morphology of the macula neglecta in sharks of the Genus Carcharhinus;
J. Morph. 152, 341 - 362 (1977)

DOHLMANN, G. F.: Secretion and absorption of endolymph;
Ann. Otol. (St. Louis) 73, 708 - 723 (1964)

DOHLMANN, G. F.: Mechanismus des Ionenaustausches, der Sekretion und der Exkretion bei der Taube;
Arch. klin. exp. Ohr-, Nas.- u. Kehlk.-Heilk. 194, 400 - 406 (1969)

DOHLMANN, G. F., F. C. ORMEROD and K. MC LAY: The secretory epithelium of the internal ear;
Acta oto-laryng. (Stockh.) 50, 243 - 249 (1959)

EGGEMANN, G. und W. BRUCHMÜLLER: Die Kohlensäureanhydratase im Innenohr des Meerschweinchens und ihre Hemmung;
Arch. klin. exp. Ohr-, Nas.- u. Kehlk.-Heilk. 190, 450 - 456 (1968)

FARKAS, B.: Das Gehör der Fische und die Cristae acustica;
Acta oto-laryng. (Stockh.) 24, 53 - 82 (1936)

FIEANDT, H. VON und A. SAXEN: Struktur und Funktion der Plana semilunata und des sog. Randepithels im statischen Labyrinth des Menschen und des Hundes;
Z. Anat. u. Entwickl.-Gesch. 106, 407 - 423 (1937)

FLOCK, A.: Structure of the macula utriculi with special references to directional interplay of sensory responses as revealed by morphological polarization; J. Cell. Biol. 22, 413 - 431 (1964)

FRISCH, K. VON und H. STETTER: Untersuchungen über den Sitz des Gehörsinns bei der Elritze; Z. vergl. Physiol. 17, 686 - 801 (1932)

GIEBEL, W.: Dehydrogenasen in der lateralen Cochleawand des Goldhamsters (Mesocricetus auratus Waterhouse) ; Arch. Ohr-, Nas.- u. Kehlk.-Heilk. 217, 69 - 79 (1977)

GIEBEL, W. und D. PLESTER: Enzymhistochemische Untersuchungen zur Funktion der Wurzelzellen; Arch. klin. exp. Ohr-, Nas.- u. Kehlk.-Heilk. 199, 660 - 663 (1971)

HADZISELIMOVIC, H. and M. ANDELIC: Contribution of the knowledge of sturgeon and trout labyrinthe; Acta anatomica 63, 124 - 130 (1966)

HAGMANN, B.: Enzymhistochemische Untersuchungen am Innenohr des Frosches (Rana temporaria); Dissertation, Tübingen (1977)

HAGMANN, B. und W. GIEBEL: Enzymhistochemische Untersuchungen am Innenohre des Frosches (Rana temporaria); Arch. Oto-Rhino-Laryng. 220, 89 - 103 (1978)

HARPER, H. A., G. LÖFFLER, P. E. PETRIDES und L. WEISS: Physiologische Chemie; Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1975

HASSE, C.: Das Gehörorgan der Fische; In: HASSE, Anatomische Studien, Drittes Heft, Leipzig 1872

HASSE, C.: Die vergleichende Morphologie und Histologie des häutigen Gehörorganes der Wirbeltiere In: HASSE, Supplement zu den Anatomischen Studien, Band I, Leipzig 1873

HAZAMA, O.: Die absondernden Zellelemente des Wirbeltierlabyrinthes; Z. ges. Anat., 1. Abt. 88, 223 - 261 (1929)

IMOKOVA, M.: Histochemische Untersuchungen des Stoffwechsels des Innenohres;
Jibi Inkôka Rhinsho 52, 348 - 362 (1959)

ISHIYAMA, E., R. A. CUTT and E. W. KEELS: Ultrastructure of the tegmentum vasculosum and transitional zone;
Ann. otol. 79, 998 - 1oo9 (197o)

IURATO, S.: Submicroscopic structure of the membranous labyrinth;
Z. Zellforsch. 52, 1o5 - 128 (196o)

IWATA, N.: Labyrinth der Fledermaus;
Aichi J. exp. Med. 1, 42 - 112 (1924)

JAHNKE, V., P. G. LUNDQUIST and J. WERSÄLL: Some morphological aspects of sound perception in birds;
Acta oto-laryng. (Stockh.) 67, 583 - 6o1 (1969)

KARLSON, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie;
Georg Thieme, Stuttgart 1972

KIMURA, R., P. G. LUNDQUIST and J. WERSÄLL: Secretory epithelial linings of the guinea-pig labyrinth;
Acta oto-laryng. (Stockh.) 57, 518 - 53o (1964)

LANG, G.: Das Gehörorgan der Cyprinoiden mit Berücksichtigung des Nervenendapparates;
Z. wiss. Zool. 13, Heft 2 (1863)

LÖWENSTEIN, O.: The Labyrinth;
In: Fish physiology.
ed. W.S. HOAR and D. J. RANDALL;
Academic Press, New York, London, 1971
Vol. V, 2o7 - 24o

LÖWENSTEIN, O., M. P. OSBORNE and J. WERSÄLL: Structure and innervation of the sensory epithelia of the labyrinth in Thornback ray (Raja clavata);
Proc. Royal Society, London, 16o, 1 - 12 (1964)

LOTZ, P. und K. D. KUHL: Die Lactatdehydrogenase des Innenohres;
Arch. klin. exp. Ohr-, Nas.- u. Kehlk.-Heilk. 192, 237 - 248 (1968)

MIRA, E.: Caratteristiche metaboliche degli epiteli differenziati delle regioni ampollari e maculari del labyrinto posteriore di cavia;
Boll. Mal. Orecch. 84, 25 - 44 (1966)

MIRA, E. und F. Dal NEGRO: Die histoenzymologischen Eigenschaften des Epithels der Übergangszone der Crista ampullaris;
Arch. klin. exp. Ohr-, Nas.- u. Kehlk.-Heilk. 193, 322 - 328 (1969)

MYGIND, S. H.: Static function of the labyrinth;
Acta oto-laryng. Suppl. 7o (1948)

MYGIND, S. H.: Continued studies on the functional mechanism of the labyrinthine sensory epithelia;
Acta oto-laryng. Suppl. 249 (1969)

NAKAI, Y. and D. HILDING: Vestibular endolymph-producing epithelium;
Acta oto-laryng. 66, 12o - 128 (1968)

NOMURA, Y. and K. Jr. BALOGH: Metabolic pathways in the vestibular labyrinth as revealed by histochemical technics;
Acta oto-laryng. 57, 484 - 492 (1964)

PEARSE, A. G. E.: Histochemistry, theoretical and applied;
Vol. I;
J. and A. Churchill, London, (1968)

PEARSE, A. G. E.: Histochemistry, theoretical and applied;
Vol. II;
J. and A. Chruchill, London, (1972)

RAUCHBACH, E. and I. K. ARENBERG: Scanning electron microscopic observations of the cilia in the sensory epithelia of the inner ear of the lemon shark, Negaprion-Brevirostris;
Anat. rec. 172, 39o (1972)

RETZIUS, G. (a): Das Gehörorgan der Knochenfische
In: G. RETZIUS, Anatomische Untersuchungen, 1. Lieferung
Studien über den Bau des Gehörlabyrinthes;
Klemmings Antiquariat, Stockholm 1881

RETZIUS, G. (b): Das Gehörorgan der Wirbeltiere;
I. Das Gehörorgan der Fische und Amphibien;
Samson und Wallin, Stockholm 1881

RÜDINGER, S.: Das häutige Labyrinth
In: SALOMON STRICKER, Handbuch der Lehre von den Geweben des Menschen und der Tiere, Leipzig
Bd. II, 882 - 914 (1872)

RUDERT, H.: Lichtmikroskopische Untersuchungen an der Crista ampullaris des Meerschweinchenlabyrinths;
Z. Zellforsch. 7o, 48o - 498 (1966)

SARASIN, P. und F.: Über das Gehörorgan der Caecileiden;
Anat. Anz. 7, 812 - 815 (1892)

SAXEN, A.: Histological studies of endolymph secretion and resorption in the inner ear;
Acta oto-laryng. (Stockh.) 4o, 23 - 31 (1951)

SCHÄTZLE, W.: Histochemie des Innenohres;
Urban & Schwarzenberg, München, Berlin, Wien 1971

SCHÄTZLE, W. und B. WESTERHAGEN VON: Zur Fermentausstattung des peripheren Vestibularapparates;
Arch. klin. exp. Ohr-, Nas.- u. Kehlk.-Heilk. 186, 29o - 297 (1966)

SCHÄTZLE, W. und B. WESTERHAGEN VON: Histochemischer Nachweis von Sulfatase im Innenohr des Meerschweinchens;
Mschr. Ohrenheilk. 1o1, 68 - 72 (1967)

SCHNAKENBECK, W.: Erste Klasse der Vertebraten: Pisces
In: Handbuch der Zoologie
herausg. J. G. HELMCKE, H. v. LENGERKEN und D. STARCK;
Walter de Gruyter & Co, Berlin,
Bd. 6, 1, 551 - 1o72 (1962)

SCHOEN, L. und E. VON HOLST: Das Zusammenspiel von Lagena und Utriculus bei der Lageorientierung der Knochenfische;
Z. vergl. Physiol. 32, 552 - 571 (195o)

SCHWERT, G. W., H. NEURATH, S. KAUFMANN and J. E. SNOKE: The specific esterase activity of trypsin;
J. biol. Chem. 172, 221 - 239 (1948)

SMITH, C. A.: Microscopic structure of the utricle;
Ann. Otol. (St. Louis) 65, 45o - 469 (1956)

STETTER, H.: Untersuchungen über den Gehörsinn der Fische, besonders von Phoxinus laevis L. und Amiurus nebulosus raf.;
Z. wiss. Biol. Abt. C 9, 339 - 477 (1928)

STREIFENSAND, K.: Untersuchungen über die Ampullen;
Müllers Arch. Anat. Physiol. wiss. Med. (Berlin), 171 - 189 (1835)

TOMASCHEK, H.: Histologische Untersuchungen des Gehörsinns von Trutta fario;
Zool. Jahrb. Abt. allg. Zool. u. Physiol. 58, 159 - 162 (1937)

VINNIKOV, J. V. and L. K. TITOVA: Dehydrogenase activity in mitochondria of nerve endings in the synapses of the inner ear in vertebrates;
Doklay Akademii Nauk SSSR, 142, 2, 484 - 487, 1962
translated: Federation Proceedings 22,3 Ot. II, 4o1 - 4o4 (1962)

VINNIKOV, J. V., L. K. TITOVA und M. Z. ARONOVA: Vergleichende histochemische Untersuchung der Cholinesterasen in den rezeptorischen Strukturen des Ohrlabyrinths und den Organen der Seitenlinie bei den Wirbeltieren;
Acta histoch. 22, 12o - 154 (1965)

WERNER, F. Cl.: Studien über die Otolithen der Knochenfische;
Z. wiss. Zool. 131, 5o2 - 587 (1928)

WERNER, F. Cl.: Das Gehörorgan der Wirbeltiere und des Menschen;
Georg Thieme, Leipzig 196o

WERNER, F. Cl.: Die Differenzierung der Makulä im Labyrinth der Wirbeltiere;
Laryng. Rhinol. Otol. 53, 2o9 - 212 (1974)

WERSÄLL, J.: Studies of the structure and innervation of the sensory epithelium of the cristae ampullares in the guinea pig;
Acta oto-laryng. Suppl. 126, 1 - 85 (1956)

WERSÄLL, J.: Cristae ampullares. Vestibularganglion. In: IURATO et al.: Submicroscopic structure of the inner ear ; Pergamon Press, Oxford 1967

WESTON, J. K.: Notes on the comparative natomy of the sensory araes of the vertebrates inner ear; J. comp. Neurol. 70, 355 - 394 (1939)

WEVER, E. G. (a): Tectorial reticulum of the labyrinthine endings of vertebrates; Ann. Otol. Rhinol. & Larngol. 82, 277 - 289 (1973)

WEVER, E. G. (b): The ear and hearing in the frog, Rana pipiens; J. Morph. 141, 461 - 478 (1973)

WEVER, E. G.: The evolution of vertebrate hearing In: Handbook of the sensory physiology; ed. W.D. KEIDEL and W. D. NEFF Springer, Berlin, Heidelberg, New York, Vol. V/1, 423 - 454 (1974)

WOHLFAHRT, Th. A.: Anatomische Untersuchungen über das Labyrinth der Elritze (Phoxinus laevis L.); Z. vergl. Physiol. 17, 659 - 685 (1932)

Herrn Professor Dr. D. Plester danke ich sehr für die Überlassung dieses Themas und das Interesse am Fortgang der Arbeit.

Herrn Dr. Werner Giebel danke ich sehr herzlich für seine freundliche Unterstützung und für seinen hilfreichen Rat bei der Planung und Durchführung der Experimente.

Fräulein Gehring und Herrn Kessler danke ich für die Ausführung der Fotoarbeiten.

LEBENSLAUF

Am 3. 12. 1949 wurde ich, Andreas Bruder, als Sohn des Dr. med. Walter Bruder und der Dr. med. Hertha Bruder in Baden-Baden geboren. Die ersten Jahre meines Lebens verbrachte ich in Baden-Baden. 1955 zog ich nach Säckingen um und trat Ostern 1956 in die dortige Volksschule ein. 1959 zog ich nach Wyhlen um und beendete hier mit dem 4. Schuljahr die Volksschule. 196o kam ich in das Jesuitenkolleg in St. Blasien und besuchte dort das humanistische Gymnasium. Im Februar 1963 verließ ich die Schule und das Kolleg und ging für zwei Monate nach London, um ab Ostern 1963 im mathematisch-naturwissenschaftlichen Gymnasium in Rheinfelden die Schule fortzusetzen. Am 26.6.1968 bestand ich das Abitur und wurde am 2.1o.1968 als Offiziersanwärter nach Glückstadt zur Bundesmarine eingezogen. Am 4.1.1971 wurde ich zum Leutnant zur See ernannt und schied am 3o.9.1972 aus dem aktiven Dienst aus.

Am 16.1o.1972 begann ich das Studium der Zahnheilkunde an der Universität Tübingen. Am 27.9.1973 bestand ich das Vorphysikum, am 14.4.1975 das Physikum. Nach zwei Reserveübungen während zweier Semesterferien im Frühjahr 1973 und Sommer 1975 wurde ich am 2o.11.1975 zum Oberleutnant zur See befördert.

Im Frühjahr 1976 nahm ich vorliegendes Dissertationsthema an und beschäftigte mich zunächst ausschließlich mit der Literatur. Am 6.7.1976 heiratete ich und wurde am 9.12.1976 Vater einer Tochter. Im Frühjahr 1977 machte ich den praktischen Teil zu meiner Dissertation. Bis zum 7.12.1977 dauerte das Staatsexamen. Danach setzte ich die Arbeit zu meiner Dissertation fort. Nach Erlangung des Doktorgrades der Zahnheilkunde beabsichtige ich, eine Assistentenstelle in Deggendorf anzutreten.